

RECHERCHES
SUR
L'INFLUENCE DE L'INANITION
CHEZ PARAMECIUM CAUDATUM

PAR
Irène LIPSKA
(Varsovie)

Avec la planche 4.

I. Introduction.

L'inanition a été souvent le sujet d'études anatomiques et physiologiques portant sur des animaux supérieurs. On a recherché la façon dont l'organisme se protège contre les dangers d'une privation prolongée de nourriture, — ce qui, sans doute, doit se présenter fréquemment dans la nature, — la manière dont il emploie ses matières de réserve et dont il s'ingénie à diminuer ses dépenses. Cela présente beaucoup d'intérêt au point de vue de la physiologie et de l'anatomie générales.

Mais la solution de la question acquiert un intérêt particulier, si l'on choisit, comme objet d'étude, un Protozoaire. En effet, tous les phénomènes vitaux sont chez lui plus simples et plus

faciles à analyser ; en conséquence, il est plus aisé de soumettre la cellule à des conditions expérimentales, qu'un ensemble complexe de cellules. Il ne faut naturellement pas perdre de vue que l'accumulation des diverses fonctions dans une même cellule entraîne, d'autre part, des complications et il est parfois bien difficile d'attribuer telle ou telle réaction constatée chez un Protozoaire à une cause déterminée.

Je me suis proposé, en prenant ces faits en considération, d'étudier l'influence de l'inanition chez *Paramecium caudatum* ; j'ai fait usage d'une méthode d'isolement qui supprime quelques-unes des causes d'erreur commises par mes prédécesseurs et qui explique les apparentes contradictions que présentent certains des faits observés par eux.

Ces recherches ont été exécutées au Laboratoire de zoologie de l'Université de Genève, sous la direction de M. le professeur E. YUNG. Je tiens à exprimer ici à M. le professeur E. YUNG toute ma reconnaissance pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de me prodiguer au cours de mes études.

II. Historique.

Je vais exposer avec quelques détails les résultats des expériences antérieures aux miennes, qui ont été publiés en langue russe dans les deux mémoires de SOSNOWSKI (36) et de CHAINSKY (8). (On ne trouve qu'un bref compte rendu du mémoire de CHAINSKY, en allemand, dans le *Zoologisches Centralblatt*, Bd. XIV, 1907). Deux autres mémoires, de KASANZEFF (21) et de WALLENGREN (42), ont paru en allemand, mais comme ce sont les seuls concernant spécialement l'influence de l'inanition chez *Paramecium caudatum*, il ne sera sans doute pas superflu de faire connaître aussi aux lecteurs de langue française, ce qu'ils contiennent de plus important.

En 1899, SOSNOWSKI (36), dans un mémoire consacré à l'étude des relations entre le noyau et le protoplasma chez les Protozoaires, cite entre autres expériences, celles qu'il fit sur les effets de l'inanition chez le *Stentor caeruleus*. Il constata que cet Infusoire étant inanitié se divise plus activement et qu'il engendre des monstres. Son macronucléus devient irrégulier, de nombreuses vacuoles de diverses dimensions, remplies d'un liquide transparent, se forment à son intérieur, alors que sa chromatine est refoulée à la périphérie et paraît comme liquéfiée, dépourvue de granulations. Quant à la membrane macronucléaire, elle disparaît, laissant les contours du noyau mal définis.

Les expériences en question semblent avoir été faites avec soin et précision. Le mode opératoire consistait à laver les Stentors dans de l'eau filtrée, puis à les isoler dans des éprouvettes bouchées au coton. Tous les jours on changeait l'eau. L'examen anatomique fut fait principalement sur des coupes.

Deux ans plus tard, en 1901, KASANZEFF (21) publia les résultats de son travail sur l'influence de l'inanition chez *Paramecium caudatum*. Le premier fait qui se produit alors, est, selon lui, l'écartement du micronucléus, qui quitte le voisinage du macronucléus. L'endoplasma devient plus transparent, ce qui permet de mieux voir ses courants; son volume diminue à cause de sa vacuolisation, de la disparition des vacuoles digestives et de la réduction des dimensions du corps.

Le volume du macronucléus augmente au contraire; sa forme change et devient allongée; les granulations chromatiques se disposent selon des lignes réunies entre elles par des branches latérales. En même temps, on remarque que le macronucléus se colore plus intensivement dans les teintures, ce qui amène l'auteur à la conclusion, que la quantité de la chromatine a augmenté en raison de l'augmentation du volume du macronucléus. On trouve, de même, dans l'intérieur de ce dernier, des amas

chromatiques nucléiformes. Ces faits portent KASANZEFF à supposer que le volume du macronucléus, et particulièrement de sa chromatine, augmente au détriment de l'endoplasma qui, lui, diminue progressivement. D'autre part, l'augmentation macronucléaire pourrait provenir en partie de l'accumulation dans le noyau des matières qui servent en temps ordinaire à la digestion des aliments. Toutes les modifications anatomiques décrites ci-dessus peuvent être considérées, selon moi, comme constituant la première phase de l'inanition.

La seconde phase est, par contre, accompagnée d'une diminution du volume total et de la chromatine du macronucléus. Si l'agrandissement de ce dernier n'a pas été trop considérable dans la première phase, il en sort de petites masses jaunâtres, qui passent dans l'endoplasma; cette substance jaunâtre est, selon l'auteur, le résultat de la réduction de la chromatine. Si, au contraire, le macronucléus s'est d'abord beaucoup agrandi, il se divise en plusieurs fragments (quatre) avant de procéder à l'expulsion de la substance jaunâtre. Dans chacun de ces fragments, la chromatine est disposée en réseau, mais ensuite elle se condense en une sorte de masse nucléolaire.

Plus l'inanition est avancée, moins il y a de divisions des Paramécies; enfin, celles-ci cessent complètement (au bout de sept jours dans l'une des expériences relatées par l'auteur). Au moment de la cessation des divisions normales, il se produit des cas de division incomplète: la formation de deux cytostomes a lieu, ainsi que celle de deux micronucléi; la segmentation du macronucléus s'effectue également, mais il n'y a pas séparation en deux individus distincts. Quand les dimensions du macronucléus d'une Paramécie n'ont pas considérablement augmenté, ce n'est que le micronucléus qui se divise; — mais, il peut arriver que les deux micronucléi filles tantôt arrondis, tantôt allongés, se fusionnent de nouveau après s'être divisés; c'est surtout le cas lorsqu'ils sont allongés. L'auteur envisage ce fait comme

une autofécondation. Parfois, il se produit aussi une régression à partir du stade d'allongement en fuseau du micronucléus, sans que sa division s'opère.

Tous ces faits semblent montrer que la puissance de division du protoplasma est plus vite épuisée que celle du micronucléus. L'auteur observa aussi un cas de division anormale qui produisit un individu sans macronucléus, l'autre restant complètement normal.

Des cas de conjugaison furent observés par KASANZEFF, même pendant le sixième jour de l'inanition; ils étaient plus nombreux les premiers jours de l'expérience, alors que la puissance de division, elle aussi, était plus forte.

Dans les expériences en question, l'inanition durait de six à neuf jours. Les dimensions moyennes des Paramécies normales et des Paramécies inanitiées étaient les suivantes :

	Long. du corps.	Larg. du corps.	Long. du macron.	Larg. du macron.
Paramécie normale.	0,232 mm.	0,084 mm.	0,05 mm.	0,023 mm.
Param. apr. 5 jours d'inan.	0,147 mm.	0,042 mm.	0,038 mm.	0,023 mm.

KASANZEFF procédait à la fixation à l'aide de l'acide picrique; il employait comme colorant le carmin boracique et comme moyen de conservation l'essence de girofle.

Comme milieu de culture, KASANZEFF employait l'infusion de feuilles de salade.

Les résultats que je viens de rapporter ne peuvent présenter, selon moi, qu'une valeur très relative, à cause de la méthode défectueuse employée par l'auteur. Il se bornait, en effet, à prélever, au moyen d'une pipette, une quantité de Paramécies de culture en évitant, autant que possible, d'aspirer du liquide nutritif. La portion prélevée, diluée avec de l'eau ordinaire, était placée dans de larges cylindres où les Infusoires séjour-

naient pendant toute la durée de l'expérience, sans que l'expérimentateur ait pris la précaution de les boucher.

La même année, WALLENGREN (42) publia ses résultats sur l'influence de l'inanition chez *Paramecium caudatum* et *Colpidium colpoda*. Il divise la durée de l'inanition chez *Paramecium* en deux périodes : pendant la première, durant de huit à dix jours, les vacuoles nutritives disparaissent, ainsi que les petits corpuscules endoplasmiques ; il est probable, selon l'auteur, qu'à la fin de la première période une partie de l'endoplasma est utilisée comme nourriture par l'Infusoire inanitié. Durant la même période, dans la couche périphérique de l'endoplasma, apparaissent des corpuscules nouveaux, ronds, homogènes, réfringents, se colorant en rouge clair par le rouge neutre (Neutralroth). Quant à l'ectoplasma, les trichocystes et les cils, ils restent sans aucune modification durant la première période. Les modifications du macronucléus consistent dans l'apparition à son intérieur, au bout de trois ou quatre jours, de corpuscules chromatiques qui tendent à se souder en masses plus grandes ; ensuite ces masses se vacuolisent et se réunissent au centre du macronucléus, où elles forment, en se fusionnant, un corps mûri-forme. Le micronucléus, lui, reste sans aucun changement pendant toute la première période de l'inanition.

Durant la deuxième période, on remarque ce qui suit. L'endoplasma devient très vacuolisé ; ces vacuoles incolores, formées, selon WALLENGREN, par les produits de décomposition de l'endoplasma, atteignent des dimensions considérables, grâce à l'osmose. Les corpuscules nouveaux qui sont apparus dans l'endoplasma à la fin de la première période, ainsi que les cristaux d'excrétion, ne disparaissent pas complètement.

Pendant la même période, l'ectoplasma est résorbé, de même qu'une partie des cils, tandis que les autres cils se trouvent simplement raccourcis ; les trichocystes sont arrachés par les courants endoplasmiques et, comme l'admet l'auteur, proba-

blement digérés. Simultanément, on observe la disparition de petits granules ectoplasmiques se colorant fortement par le rouge neutre. Les vésicules contractiles et leurs canaux diminuent considérablement. L'Infusoire devient méconnaissable, son corps prend une forme large et courte, avec des contours irréguliers.

Dans le macronucléus, le corps mûriforme formé de la manière décrite ci-dessus, pendant la première période de l'inanition, s'arrondit; à son intérieur apparaissent plusieurs petits corpuscules ronds; à sa superficie des vacuoles fines se disposent, tandis que la partie intérieure est remplie de vacuoles plus grandes. Le macronucléus est fortement déformé et comprimé par les vacuoles endoplasmiques augmentant toujours de volume; il finit par se diviser en fragments qui, selon l'auteur, doivent être probablement employés comme nourriture. Il ne restera du macronucléus, vers la fin de cette période, que le corps arrondi, non déformé.

Le micronucléus présente, durant cette période, un changement de position, de forme et de structure tout à fait identique aux changements qui se présentent pendant les phénomènes normaux de la bipartition, laquelle pourtant n'a pas lieu. Il est à noter que, seul, le micronucléus, agent principal de la reproduction, n'est pas désorganisé par l'inanition. Ce fait frappe par la coïncidence avec les phénomènes observés chez les animaux supérieurs et paraît prouver la destruction des organes dans l'ordre de leur moindre utilité pour l'individu et la conservation de ceux destinés à perpétuer l'espèce.

Au point de vue physiologique, on observe toujours, d'après WALLENGREN, que les mouvements de translation sont ralentis, quoique les cils gardent le rythme normal de leur battement. L'irritabilité, en général, ne paraît pas avoir changé. La mort peut être brusque, occasionnée par la rupture de la membrane, sous la pression des vacuoles endoplasmiques arrivées à leur

volume maximum. La membrane une fois rompue, la décomposition granulaire (der körnige Zerfall) du protoplasma se produit immédiatement. A côté de ces cas plutôt exceptionnels, WALLENGREN en cite d'autres où la mort normale, physiologique, sans lésion extérieure, a lieu par une lente décomposition protoplasmique.

L'auteur a tenté aussi l'étude du retour à la vie normale, en plaçant les Paramécies, soumises préalablement à l'inanition, dans le milieu nutritif habituel. La reconstitution se fait d'autant mieux que l'Infusoire est transporté plus lentement et plus progressivement de l'eau sans aliments dans des milieux de plus en plus denses et riches en nourriture. Tous les phénomènes se déroulent alors en sens inverse de celui suivi au cours de l'inanition, et, au bout de trois ou quatre jours, la division, arrêtée par cette dernière, peut se produire de nouveau.

De nombreuses conjugaisons furent observées pendant les trois ou quatre premiers jours de l'inanition.

Ces expériences duraient de onze à quinze jours et même plus longtemps encore. Les dimensions moyennes des Paramécies avant et après les expériences de l'inanition étaient :

	Longueur du corps.	Largeur du corps.
Paramécie normale	0,25 à 0,3 mm.	0,07 à 0,08 mm.
Paramécie après 10 jours d'inan. .	0,16 à 0,17 mm.	0,02 à 0,04 mm.

WALLENGREN employa la méthode de fixation par le sublimé corrosif ou par le mélange des acides chromique, osmique et acétique. Il se servait d'hémalun et d'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN comme colorant.

Le milieu de culture employé durant ses recherches était l'infusion de foin.

La méthode de travail de WALLENGREN fut beaucoup plus

exacte que celle de KASANZEFF. Elle consistait à transporter plusieurs fois les Paramécies à l'aide d'une pipette dans des éprouvettes remplies d'eau ordinaire filtrée; WALLENGREN mettait une quantité considérable d'Infusoires, partiellement lavés par ces passages successifs, dans de petites éprouvettes fermées au coton, où ils restaient pendant toute la durée de l'expérience sans renouvellement de l'eau.

Le dernier travail, concernant entre autres expériences physiologiques des recherches sur l'inanition chez *Paramecium caudatum*, fut celui de CHAINSKY (8) publié en 1906. Les modifications anatomiques observées par l'auteur pendant la première période de l'inanition sont les suivantes. Le corps de l'Infusoire devient plus mince et parfois presque plat; les vacuoles digestives disparaissent, de même que les grains endoplasmiques, qui, en général, n'existent plus au moment de la vacuolisation de l'endoplasma; ce dernier phénomène devient général le cinquième ou le sixième jour de l'expérience. Quant aux dimensions des vacuoles produites pendant le jeûne, elles peuvent présenter des variations considérables chez un même individu.

Durant la même période, l'ectoplasma, les trichocystes et les cils demeurent sans aucun changement.

Par contre, le macronucléus change progressivement de forme; il devient parfaitement sphérique, ce qui, selon l'auteur, fait reculer le micronucléus d'une manière complètement passive. A l'intérieur du macronucléus, commence à s'accumuler le suc nucléaire, qui provient, comme l'admet CHAINSKY, de la décomposition de la chromatine. De petites vacuoles incolores, formées par le suc nucléaire, remplissent le macronucléus, dans lequel, parfois, on trouve en outre des grains chromatiques, plus volumineux que ceux d'un noyau normal. Il arrive aussi que l'on trouve des Paramécies avec un macronucléus fragmenté en deux morceaux, mais dont le micronucléus est resté normal, sans présenter aucun signe de division mitotique.

Durant la deuxième période, l'endoplasma se vacuolise davantage, c'est-à-dire que les dimensions des vacuoles augmentent encore; le corps de l'inanitié devient alors gonflé, déformé et beaucoup plus court, ce qui fait changer de 2,16 à 1,21 le rapport de son grand à son petit diamètre.

Les vacuoles du macronucléus, elles aussi, augmentent considérablement par la quantité de suc nucléaire qui s'y accumule; les plus grandes d'entre elles occupent l'intérieur du macronucléus; leur contour est bordé de grains chromatiques, tandis que la chromatine restée entre les vacuoles est homogène et paraît être dépourvue de structure définie. Le volume du macronucléus augmente un peu, mais sa forme reste sphérique; ce n'est que plus tard, vers la fin de cette période, quand la pression interne du suc nucléaire accumulé dans les vacuoles atteint son maximum, qu'il arrive un moment où, après un étirement dans le sens du grand axe du corps, la membrane macronucléaire cède à cette pression et se rompt; le macronucléus se réduit alors en morceaux; il n'en reste parfois que de minces feuillets granuleux. Dans certains cas exceptionnels, ces restes peuvent manquer aussi et on a alors des Paramécies sans trace de macronucléus, mais gardant leur micronucléus. En second lieu, la pression des vacuoles endoplasmiques, elle aussi, peut jouer un rôle actif considérable dans le morcellement du macronucléus.

L'ectoplasma peut se vacuoliser à son tour; les trichocystes peuvent manquer complètement, mais le plus souvent on voit l'ectoplasma rester sans aucun changement et les trichocystes demeurer intacts par places (surtout aux deux extrémités du corps). CHAINSKY admet que leur absence partielle s'explique par le fait que le macronucléus et l'endoplasma ont subi durant l'inanition une décomposition chimique au point de ne plus pouvoir élaborer les trichocystes servant à remplacer ceux qui ont été déjà expulsés.

Pendant les premiers jours de l'inanition, de fréquentes conjugaisons furent observées par l'auteur. Les expériences durèrent de onze à vingt jours. CHAINSKY attire l'attention sur le fait que leur durée dépendait exclusivement du soin avec lequel étaient opérés des lavages précédant la mise à l'inanition, et de « l'état physiologique » des Paramécies soumises à l'expérience.

La fixation était faite à l'aide d'un mélange chromo-acétique; comme colorant, CHAINSKY employait le carmin acidulé et comme moyen de conservation il prenait le baume de Canada.

Son mode opératoire pour la mise à l'inanition était le suivant. Les Paramécies étaient prises dans le cristallisateur et transportées sur des verres plats; au fur et à mesure que l'eau s'évaporait, il y ajoutait de l'eau ordinaire filtrée; ensuite il transportait deux fois les Paramécies à l'aide d'une pipette capillaire dans des éprouvettes contenant aussi de l'eau filtrée; les Infusoires y restaient deux ou trois jours et étaient transportés la dernière fois dans des éprouvettes fermées au coton, où ils séjournaient pendant toute la durée de l'expérience sans que l'on renouvelât l'eau.

Pour l'étude physiologique, CHAINSKY se servait de la coloration vitale par le rouge neutre. L'examen microscopique avait lieu sur des coupes faites à la photoxyline et à la paraffine.

Après avoir donné un compte rendu des principaux travaux concernant les effets de l'inanition chez *Paramecium*, je vais résumer, dans un tableau comparatif, les résultats obtenus par les auteurs, ce qui facilitera beaucoup aux lecteurs leur orientation dans l'ensemble des modifications observées durant les expériences. L'ordre suivi dans ce tableau est celui dans lequel je relaterai plus loin mes propres recherches.

TABLEAU COMPARATIF DES EFFETS DE L'INANITION

<i>Effets physiologiques.</i>	KASANZEFF.	WALLEGREN :	CHAIKSKY.
1° Durée de l'expérience :	6 à 9 jours.	13 à 17 jours.	11 à 20 jours.
2° Mouvements de translation :	pas d'observations.	raletissement.	affaiblissement.
3° Irritabilité :	pas d'observations.	aucun changement.	pas d'observations.
4° Rythme des vésicules con- tractiles :	pas d'observations.	aucun changement.	pas d'observations.
5° Division :	1 ^{re} pér. bipartitions fréquentes. 2 ^{me} pér. bipartitions rares.	1 ^{re} pér. bipartitions fréquentes. 2 ^{me} pér. bipartitions rares.	pas d'observations.
6° Conjugaison :	1 ^{re} pér. fréquence. 2 ^{me} pér. rareté.	1 ^{re} pér. fréquence. 2 ^{me} pér. absence.	1 ^{re} pér. rareté. 2 ^{me} pér. absence.
7° Mort :	pas d'observations.	brusque ou lente.	pas d'observations.
8° Reconstitution.	pas d'observations.	facilité.	pas d'observations.
<i>Effets anatomiques.</i>			
1° Modifications de l'endo- plasma :	vacuolisation.	apparition des corpuscules; va- cuolisation.	vacuolisation.
2° Modifications de l'ecto- plasma :	pas d'observations.	1 ^{re} pér. aucun changement. 2 ^{me} pér. résorption.	1 ^{re} pér. aucun changement. 2 ^{me} pér. vacuolisation.
3° Modifications de la forme et du volume du corps :	1 ^{re} pér. aucun changement. 2 ^{me} pér. déformation. 1 ^{re} pér. diminution. 2 ^{me} pér. augmentation.	1 ^{re} pér. changement. 2 ^{me} pér. déformation. 1 ^{re} pér. diminution. 2 ^{me} pér. augmentation.	1 ^{re} pér. changement. 2 ^{me} pér. déformation. 1 ^{re} pér. diminution. 2 ^{me} pér. augmentation.
4° Modifications du macro- nucleus :	1 ^{re} pér. volume augmente; forme change. 2 ^{me} pér. volume diminue; frag- mentation.	1 ^{re} pér. formation du corps mû- riforme. 2 ^{me} pér. déformation, fragmen- tation.	1 ^{re} pér. forme change; vacuoli- sation. 2 ^{me} pér. forte vacuolisation; frag- mentation.
5° Modifications du micro- nucleus :	1 ^{re} pér. aucun changement. 2 ^{me} pér. figures de la mitose.	1 ^{re} pér. aucun changement. 2 ^{me} pér. figures de la mitose.	1 ^{re} pér. aucun changement. 2 ^{me} pér. aucun changement.

L'examen de ce tableau montre, d'une manière évidente, que les observations de mes prédécesseurs sont loin d'être concordantes; il en est de même relativement à l'interprétation des phénomènes décrits.

D'autre part, si l'on se rend compte des conditions de leurs expériences, on voit que même les méthodes, qui étaient précédemment considérées comme étant les plus exactes, ne le furent pas à un degré suffisant. Si on laisse de côté les expériences de KASANZEFF, où il n'y avait pas de lavages préalables des Paramécies mises à l'inanition et où les cylindres, où elles séjournaient, restaient ouverts pendant toute la durée de l'expérience, on voit que WALLENGREN observe, chez les Paramécies mises à l'inanition, l'apparition de vacuoles digestives déjà après quelques jours, ce qui prouve que la nourriture ne leur faisait pas défaut. Cette nourriture consistait, sans doute, dans les cadavres des Paramécies ayant succombé plus vite ou plutôt dans les Bactéries qui s'y développaient en abondance. Pendant les derniers jours de l'expérience, tous les *Colpidium colpoda* mêlés aux Paramécies disparaissaient d'une façon mystérieuse et servaient probablement à augmenter le développement des Bactéries. Il y a aussi à noter le fait curieux de l'apparition, vers la fin de l'expérience, de *Stylonychia mytilus* dans des cultures mises à l'inanition (Hungerkultur).

Dans le mémoire de CHAINSKY, il n'y a pas de données sur la présence ou l'absence de Bactéries dans ses cultures mises à l'inanition, mais il suffit de voir les nombres de préparations des Paramécies faites de ces cinq cultures (de la 1^{re} 2279; de la 2^{me} 2759; de la 3^{me} 1527; de la 4^{me} 5531 et de la 5^{me} 2986, en total, 15082) pour se rendre compte de l'énorme difficulté, sinon de l'impossibilité complète de débarrasser des Bactéries les Infusoires, dans le cas où on opère sur des quantités tellement grandes.

Il est vrai que CHAINSKY indique, que pour les observations

physiologiques il isolait les Paramécies dans le verre de montre après un lavage préalable et il leur changeait chaque jour l'eau; mais il ne donne pas le nombre de Paramécies traitées de cette façon, ni la durée de l'expérience dans ces conditions. Ces Paramécies n'étaient d'ailleurs pas étudiées au point de vue de leurs modifications anatomiques.

Je laisse de côté les travaux, dont un aperçu est donné par WALLENGREN dans la partie historique de son mémoire, car ils ne nous fournissent que quelques petites observations faites au cours de recherches portant sur d'autres questions, comme c'est le cas pour SCHEWIAKOFF (34), par exemple, dans son étude de la composition chimique des cristaux d'excrétion chez les Paramécies.

De même, on trouve quelques ouvrages plus récents traitant telle ou telle question particulière de la physiologie de *Paramecium*, où l'inanition n'entre que comme un des agents qu'on fait varier pour connaître son influence sur la fonction étudiée. Ces travaux, ainsi que d'autres dans lesquels l'étude des effets de l'inanition est parfois un peu plus détaillée, mais ne porte que sur les Rhizopodes, principalement sur les Amibes, les Héliozoaires, ou sur d'autres Infusoires ciliés, sont énumérés dans mon index bibliographique, où je me suis efforcée de donner la littérature complète de mon sujet.

Je me borne ici à les citer en indiquant l'espèce observée, ce qui n'est pas toujours mentionné dans le titre lui-même. Parmi les premiers il y a à noter les travaux de PÜTTER (33) concernant la respiration étudiée chez le *Paramecium caudatum*; de JENNINGS (17) portant sur l'hérédité, la variation et l'évolution aussi chez le *Paramecium*; de BARRAT (1) traitant de la production de l'anhydride carbonique (CO_2) chez le même sujet. Parmi les seconds, il faut indiquer les ouvrages de R. HERTWIG (16), où ce savant donne les résultats de ses expériences sur l'inanition faites sur l'*Actinosphaerium Eichhorni*, sur le

Dileptus gigas et sur le *Paramecium caudatum* (dans ce dernier cas R. HERTWIG cite à maintes reprises les observations de KASANZEFF, son élève); de PENARD (29), concernant l'étude d'*Amoeba terricola*; de STOLC (38), fait sur l'*Amoeba proteus* et de THON (39), où sont décrites les modifications de structure dues à l'inanition chez le *Didinium nasutum*.

La valeur des constatations exposées par les auteurs dans les ouvrages cités est considérablement atténuée par l'absence totale, ou en tous cas par le peu de précision dans les indications concernant la méthode employée, la durée des expériences et leur nombre.

III. Matériel et méthode.

J'ai choisi comme objet d'étude le *Paramecium caudatum*. Pour mes premières cultures, commencées en octobre 1908, j'employais les Infusoires pris dans l'aquarium du laboratoire et provenant du Jardin botanique de Genève.

MILIEU NOURRICIER.

Mon but étant l'observation des effets de l'inanition sur les Paramécies isolées, il me fallait résoudre, dès le commencement, la question de savoir quels pouvaient être les milieux nourriciers les plus capables de me fournir constamment des individus normaux et dont l'histoire évolutive me fut, autant que possible, bien connue.

J'avais essayé des cultures dans des infusions de feuilles de salade et de foin stérilisés par l'ébullition, mais les résultats obtenus ne furent pas satisfaisants; l'infusion devenait trouble au bout de vingt-quatre heures et les Paramécies, qui y avaient été introduites et s'y étaient multipliées abondamment pendant les trois à cinq premiers jours, après avoir atteint des dimen-

sions considérables, à cause, sans doute, du fort développement des Bactéries, diminuaient de taille et finissaient par mourir. Je constatai que, dans ce cas, il s'était produit une grande abondance d'Infusoires tentaculés et ce sont ceux-ci, à mon avis, qui empêchaient surtout la prospérité de la culture.

La farine bouillie, préparée suivant la formule de MAUPAS (26), ainsi que le bouillon de viande, présentèrent l'inconvénient de fermenter très vite à la température du laboratoire (20° à 25° C.). Après quelques autres essais plus ou moins fructueux avec le moût de vin gélatinisé (5 % de gélatine), l'agar-agar (5 %) ou la gélatine (5 %), je trouvai dans un mémoire de STATKEWITSCH (37) l'exposé de ses méthodes de préparation des milieux colloïdaux denses; les appliquant à mes recherches, j'ai obtenu de bons résultats, surtout avec l'*Alga carrageen* (5 %).

Pour obtenir le milieu nourricier liquide, je laissais pendant vingt-quatre heures un morceau (1 à 2 cm³) d'Algue non lavée préalablement au bicarbonate de soude (lavage indiqué par STATKEWITSCH) dans un tube contenant 10 cm³ d'eau ordinaire, bouillie, aérée et filtrée. Après vingt-quatre heures, l'Algue étant en partie dissoute, j'enlevais le résidu après avoir remué le liquide.

Pour l'ensemencement, je choisissais trois à cinq Paramécies d'une ancienne culture et après les avoir examinées sous le microscope (objectif AA de ZEISS) afin de m'assurer qu'elles étaient normales (fig. 1), je les transportais avec une pipette capillaire (diamètre de l'ouverture 1/2 mm.) dans le milieu préparé. Les tubes contenant ce milieu étaient bouchés avec des bouchons de liège; j'aérais le liquide en le remuant deux fois par jour, le matin et le soir, ce qui contribuait en même temps à une dissémination uniforme de la nourriture, c'est-à-dire des Bactéries.

Contrairement aux données de STATKEWITSCH, je n'ai pas observé d'action toxique des produits de décomposition de

l'Algue; même en laissant dans mon milieu nourricier les morceaux d'Algue non dissous, je n'ai remarqué, au bout de 15 jours, aucun effet nuisible pour la culture. Dans ce dernier cas le développement des Paramécies était au contraire plus riche. Néanmoins, je préférerais enlever les morceaux d'Algue non dissous après vingt-quatre heures, afin de ne pas trop augmenter la densité du milieu, ce qui rend difficiles les lavages précédant l'inanition.

Chaque semaine je préparais des milieux nouveaux, et parfois même plus souvent, en ensemençant chaque fois quelques individus choisis parmi ceux d'une ancienne culture.

Dans ces cultures hebdomadaires, je n'observais jamais de cas de conjugaison; par contre, dans les cultures où le milieu nourricier n'était pas renouvelé pendant quelques semaines, je pus constater plusieurs fois une forte épidémie de conjugaisons. Ce fait confirme les données de KULAGIN (23), de LE DANTEC (24), de LOISEL (25), et d'ENRIQUES (10). D'après ces auteurs, en effet, la dégénérescence des Paramécies, condition de leur conjugaison, est due à leur intoxication par les déchets qu'elles produisent et par ceux dus aux Bactéries présentes dans le milieu nourricier (voir page 637).

La hauteur de la colonne liquide joue, d'après mes observations, un rôle considérable pour la prospérité des cultures. Ainsi, avec une même quantité de liquide nourricier, j'ai toujours obtenu de meilleurs résultats en me servant des tubes pour les cultures, qu'en utilisant pour le même but les verres de montre.

ENRIQUES (11), à la suite d'expériences faites à ce sujet sur *Colpoda Steini*, est aussi arrivé à constater l'importance de la hauteur de la couche liquide; cette importance se traduit par l'impossibilité des Colpodes de se conjuguer dans le cas où la couche du liquide environnant dépasse 2 à 3 mm. dans sa direction verticale (p. 287. « 2° Impossibilità di coniugarsi, per

il *Colpoda Steini*, se l'ambiente liquido supera 2-3 mm. di spessore in direzione verticale »).

Cette constatation d'ENRIQUES demandera à être soigneusement vérifiée, car elle entraîne comme conséquence une nouvelle conception de la conjugaison ; en effet, cette dernière n'existerait pas dans la nature et ne serait qu'un phénomène purement pathologique provoqué chez le *Colpoda* par les conditions anormales de vie au laboratoire.

TEMPÉRATURE.

La température la plus favorable pour le développement des cultures est comprise entre $+ 20-25^{\circ}$ C. Une température plus élevée montant jusqu'à 35° C. accélère la multiplication des Paramécies, mais celles-ci meurent dans un délai plus court. Si on les soumet à une température de $15^{\circ}-20^{\circ}$ C. il y a, au contraire, un notable ralentissement dans le développement des cultures. Pour avoir constamment la température exacte du milieu, j'y plongeais de petits thermomètres ajustés dans les bouchons.

Durant mes recherches, je conservais toujours mes cultures dans les mêmes conditions de lumière ; elles restaient près d'une fenêtre bien éclairée, mais je les préservais contre l'action directe du soleil.

PROPRETÉ.

Outre les conditions favorables de température et de lumière, un agent de première importance pour la prospérité des cultures est, à mon avis, l'observation d'une extrême propreté dans la préparation du milieu nourricier, ainsi que dans toutes les manipulations concernant le matériel de l'expérience. Tous les instruments dont on se sert (tubes, verres de montre, lames, pipettes, etc.) doivent être bouillis après chaque service pour éviter l'infection par des Bactéries nuisibles au développement

des Paramécies ou par des Algues vertes, dont je dirai quelques mots plus loin.

Les Paramécies cultivées, ne se nourrissant que de Bactéries, ont l'avantage d'être d'une transparence beaucoup plus grande que celle des Infusoires pris dans les eaux naturelles, ce qui facilite énormément l'examen de leur structure. Un moyen facile de constater l'état alimentaire des Paramécies consiste à les colorer à l'aide du rouge neutre ; grâce à cette coloration vitale on peut voir apparaître jusqu'à vingt vacuoles digestives, différenciant entre elles par leur teinte, laquelle peut varier du rouge framboise au rouge orange, suivant la phase de digestion des aliments qu'elles contiennent. Pour les détails, voir l'ouvrage de NIRENSTEIN (28), où le lecteur trouvera l'étude approfondie de cette question.

Afin de m'assurer que la culture artificielle n'influe en aucune manière sur la marche générale de l'inanition, ce qui aurait pu fausser les conclusions tirées de mes recherches, j'ai comparé les résultats des expériences faites sur les Paramécies obtenues par culture avec ceux des expériences parallèles faites sur les mêmes Infusoires pêchés directement dans un étang.

INFECTION PAR DES PROTOCOCCACÉES.

Avant de passer à la description de la méthode employée pour mes expériences sur l'inanition, je rapporterai ici mes observations sur la présence des Algues vertes (*Protozoocaccées*) dans l'endoplasma des Paramécies.

Au mois de mars, ayant employé par mégarde de l'eau filtrée, mais non bouillie, je fus frappée par la présence d'Algues vertes à l'intérieur des Paramécies. Les Algues y étaient irrégulièrement dispersées par petits groupes, mais non enfermées dans des vacuoles digestives (fig. 2). Comme je ne suis jamais arrivée à observer des altérations de ces Algues, qui pussent être attri-

buées à la digestion (voir NIRENSTEIN [28] et aussi CHAINSKY [8]), j'entrepris quelques essais afin de me renseigner sur le rôle de ces organismes.

Pour m'assurer que les Algues vertes restaient vivantes dans l'endoplasma des Paramécies, j'ai fait l'expérience suivante. En mettant la même quantité de liquide nourricier dans deux éprouvettes munies de branches latérales, j'y introduisis un grand nombre de Paramécies; dans la première j'ai mis des Infusoires sans Algues vertes, dans la seconde éprouvette des Infusoires contenant des Algues. Dans les deux éprouvettes j'ai fait circuler de l'hydrogène, afin de chasser l'air, puis je les fermai à la lampe, plaçant ainsi les Paramécies dans un milieu anaérobie. Après avoir exposé les deux éprouvettes aux mêmes conditions de température et de lumière, j'ai pu observer un ralentissement progressif des mouvements de translation des Paramécies, lesquelles s'accumulaient à la surface du liquide nourricier. Cinquante heures après le commencement de l'expérience, j'ai cassé les deux éprouvettes : les Paramécies sans Algues vertes étaient mortes, tandis que celles qui contenaient des Algues continuaient à nager, quoique très lentement. Dès que l'air eut pénétré dans l'éprouvette, ces dernières Paramécies commencèrent à se remettre et au bout de vingt-quatre heures elles étaient revenues à l'état normal.

Une seconde expérience a consisté à mettre à l'obscurité les deux éprouvettes contenant des Paramécies infectées d'Algues vertes et d'autres sans Algues. Après huit jours, les Paramécies dépourvues d'Algues vertes furent trouvées mortes et plus ou moins décomposées, leur macronucléus étant resté cependant intact, ce qui est en contradiction avec les données de JICKELI (18). Selon cet auteur, en effet, le macronucléus des Infusoires soumis à l'obscurité se fragmente dans un délai de huit jours. A mon avis, la mort des Paramécies, qui ne contenaient pas d'Algues vertes, était causée par un énorme développement de

Bactéries nocives, favorisé par l'absence de lumière. Les Paramécies renfermant des Algues vertes restaient pendant le même temps dans un état de parfaite prospérité ; en les examinant à l'état vivant et sur des préparations, je pus constater que les Algues vertes contenues dans leur endoplasma avaient diminué de taille et étaient devenues plus foncées.

Ce qui m'a frappé en outre, c'est l'absence de conjugaisons dans les vieilles cultures de Paramécies infectées d'Algues vertes. Je m'explique ce fait par l'influence des Algues qui, en dégageant de l'oxygène, s'opposeraient au développement des Bactéries anaérobies (telles que la plupart des Bactéries de la putréfaction), qui ont par leurs déchets une action toxique sur les Paramécies (voir page 637).

L'influence des Algues vertes se manifeste aussi pendant l'inanition et porte surtout sur la durée de cette dernière, ainsi que nous le verrons plus loin.

MODE OPÉRATOIRE DE LA MISE A L'INANITION.

Pour obtenir de bons résultats des expériences concernant l'inanition, il s'agissait surtout de trouver une méthode, qui permit d'obtenir la plus grande réduction possible de toute substance alimentaire dans le milieu où était placée la Paramécie.

Mon premier soin fut donc de débarrasser par des lavages très minutieux les Paramécies devant servir de sujets d'expériences de toutes les particules nutritives, y compris les Bactéries, qu'elles pouvaient porter sur elles. Pour tenir compte des effets possibles de la grande sensibilité des Paramécies à l'égard des variations de la pression osmotique, il est indispensable d'opérer de tels lavages dans des liquides dont la densité aille en diminuant progressivement, afin d'éviter le passage brusque des eaux riches en substances organiques à l'eau bouillie, aérée et filtrée, qui servira comme milieu à la Paramécie en inanition.

CHAINSKY commençait les lavages en laissant s'évaporer l'eau de l'infusion et en la remplaçant par une même quantité d'eau filtrée; ce moyen ne fait, d'après moi, qu'occasionner une perte de temps et que donner des résultats problématiques. En effet, par l'évaporation, toutes les substances chimiques dissoutes dans cette eau, ainsi que les diverses particules organiques, qu'elle tient en suspension y restent; de plus, en ajoutant de l'eau ordinaire on augmente chaque fois la quantité de substances chimiques, ce qui amène l'accroissement de la densité du liquide.

Le mode opératoire que j'ai employé présentait l'avantage de satisfaire à la fois aux deux conditions indispensables, de diminuer progressivement la pression osmotique et de débarrasser autant que possible les Paramécies en expérience, des Bactéries et d'autres particules nutritives. Ainsi, je mettais une trentaine de Paramécies dans un verre de montre avec un peu de liquide nourricier, pris à la surface et dépourvu autant que possible de corps étrangers, et je laissais tomber très lentement (par exemple chaque 5 minutes), goutte par goutte, de l'eau bouillie, aérée et filtrée. Quand la quantité d'eau sur le verre de montre avait à peu près doublé, j'étais avec une pipette une partie du liquide (environ un tiers) et je recommençais à ajouter de l'eau pure pour de nouveau doubler le volume du liquide. Après avoir répété cette manipulation trois fois de suite, je transportais au moyen d'une pipette (de $\frac{1}{3}$ ou $\frac{1}{2}$ mm de l'ouverture) trois ou cinq Paramécies avec très peu de liquide sur un porte-objet et je mettais à côté une goutte d'eau pure, que je réunissais peu après à celle contenant les Paramécies au moyen d'un étroit pont de liquide. Au bout de quelques minutes, on pouvait voir les Infusoires s'avancer petit à petit à travers le trait d'union entre les deux gouttes et s'engager dans l'eau pure. Il faut surveiller tout le temps à la loupe leurs mouvements, afin de les aspirer à ce moment avec une pipette (em-

ployée sans caoutchouc pour diminuer la quantité d'eau aspirée) et les transporter dans une nouvelle goutte d'eau. Il est bon de laisser quelques minutes les Paramécies dans cette nouvelle goutte avant de les transporter une à une dans les gouttes d'eau pure où elles resteront à l'inanition.

Je choisisais toujours, pour ces expériences, des individus de grande taille et bien nourris. Avant de les soumettre à l'inanition, je les examinai au microscope (objectif A.A.-ZEISS), afin de m'assurer que chaque individu était normal.

Au début de mes recherches, les Paramécies isolées dans des gouttes d'eau pure étaient placées à la chambre humide sur des lames creuses (diamètre du creux = 0,9 cm.). Mais cette méthode me parut bientôt ne pas assurer une inanition assez rigoureuse, car la goutte d'eau contenant la Paramécie en expérience est exposée, sur la lame creuse, à la chute des germes de Bactéries. De plus, même dans une chambre humide bien conditionnée, l'eau s'évapore peu à peu, ce qui oblige à ajouter aux Paramécies de temps en temps de l'eau pour remplacer celle qui s'est évaporée.

C'est pourquoi je recourus à l'isolement de mes sujets dans des tubes capillaires, que je préparais moi-même, leur donnant le diamètre approprié et la parfaite propreté nécessaire. Le diamètre de 0,2^{mm} à 0,3^{mm} et la longueur de 2 à 3 centimètres sont les dimensions les plus convenables.

Quand on opère avec une certaine habileté, on arrive facilement, en plongeant le tube capillaire dans la goutte d'eau où se trouve une Paramécie isolée, à la faire pénétrer dans le tube par son action capillaire. Si le tube est trop étroit, il arrive que la Paramécie s'y blesse en entrant et ne tarde pas alors à mourir. Aussi doit-on observer pendant quelques minutes les Paramécies emprisonnées, afin de s'assurer que leur état est normal au commencement de l'expérience.

Les tubes capillaires et tous les autres objets, dont on se

sert pour les expériences doivent être passés à la flamme du bec de gaz au moment de s'en servir.

J'avais constamment une centaine de Paramécies en expérience, chacune d'elles enfermée dans un tube capillaire numéroté, de manière à pouvoir tenir le journal de l'activité de chacun des individus, que je passais en revue quotidiennement.

Comme chambres humides, je me suis servie de cuves en verre à bords rodés de 22 cm. de longueur sur 15 cm. de largeur et 5 cm. de haut; à l'intérieur de chaque cuve je mettais un soutien, également en verre, haut de 4 $\frac{1}{2}$ cm., sur lequel quatorze lames trouvaient place sur deux rangées. Le tout fut recouvert d'une grande et lourde plaque en verre. Pour que la fermeture soit aussi hermétique que possible, les bords de la cuve sont enduits de vaseline. L'eau doit monter dans la cuve jusqu'au soutien, ce qui réduit l'espace d'air à un demi-centimètre de hauteur et fait qu'il est vite saturé de vapeurs. Durant toutes mes recherches, les chambres humides demeurèrent à la même place, afin d'éviter les variations d'éclairage et de température.

La méthode d'isolement dans les tubes capillaires, en réduisant l'évaporation de l'eau au minimum, a l'avantage de permettre à la Paramécie de rester tout le temps de l'expérience dans la même quantité d'eau; de plus, l'inanition peut être beaucoup plus rigoureuse par le fait que la pénétration des Bactéries est empêchée grâce à la position latérale des ouvertures (l'entraînement des germes par une agitation de l'air est exclu, vu la conservation des tubes dans une chambre humide).

Afin de réfuter d'avance la seule objection qui pourrait m'être présentée : l'effet morbide qu'exercerait sur la Paramécie l'eau non renouvelée et contenue en quantité très restreinte dans le tube, j'entrepris une série d'expériences qui m'ont démontré que la quantité d'eau n'influe en aucune manière sur la marche générale de l'inanition. Ces expériences consistèrent à

mettre dans des conditions identiques deux sortes de tubes : les uns du diamètre et de la longueur indiqués plus haut et d'autres de longueur double, le diamètre restant le même. A la fin des expériences, je pus constater que la durée et les effets de l'inanition furent les mêmes dans les deux cas, malgré la différence de la quantité d'eau.

Les tubes capillaires présentant pour les Paramécies des conditions de vie nouvelles et qui n'ont pas encore été étudiées, il me sera permis d'exposer quelques observations sur leur manière de se comporter dans ces tubes.

Dès le moment de l'aspiration, les Paramécies se mettent à parcourir les tubes d'un ménisque à l'autre, avec une grande rapidité, presque sans s'arrêter. Cette agitation dure quelques heures. Le lendemain, le grand axe de leur corps restant parallèle à celui du tube, elles palpent, avec leur extrémité antérieure, la surface du ménisque, comme pour l'explorer ; parfois on les voit quitter leur place, nager quelques instants à reculons et se précipiter ensuite avec un nouvel élan vers le ménisque, comme s'il présentait une membrane résistante qu'elles voudraient percer, afin de pouvoir s'échapper du tube ; cette même manœuvre se répète plusieurs fois de suite et rappelle les efforts des Oiseaux et des Insectes qui s'élancent en vain contre les fenêtres de la chambre où ils sont enfermés. Vers le cinquième ou le septième jour, les mouvements de translation des Infusoires captifs se ralentissent beaucoup et ils nagent en zigzag. Les jours suivants, leur mouvement cesse presque complètement ; ils se rapprochent de nouveau du ménisque, le grand axe de leur corps étant, cette fois, perpendiculaire au grand axe du tube. Cette position est possible, même dans le cas des tubes très étroits (200 μ), par le fait de la diminution des dimensions de leur corps, ainsi que par la courbure de ce dernier, qui se manifeste durant les derniers jours de l'expérience.

J'avoue ne pas très bien me rendre compte de cette préfé-

rence des Paramécies à se tenir près du ménisque. Les trois suppositions qu'on peut faire à cet égard : la plus forte teneur en oxygène, une moindre pression ou enfin la présence de Bactéries, me paraissent être complètement inadmissibles, car un manque d'oxygène ne peut se présenter dans un tube ouvert ; quant à la différence de pression, sa valeur est tellement faible, vu les dimensions relativement grandes du tube, qu'elle ne joue probablement aucun rôle ; enfin, les Bactéries ne peuvent sans doute pas pénétrer dans le tube par les ouvertures latérales, surtout parce que les ménisques se trouvent toujours placés à la distance de quelques millimètres de l'ouverture.

Un autre fait étrange, dont la présence m'a frappée, reste également inexpliqué. En comparant les résultats obtenus dans les tubes de diamètre différent, je suis arrivée à constater que les expériences sur l'inanition réussissent mieux et ont une plus grande durée dans les tubes plus étroits (250 μ).

Durant mes recherches, j'ai soumis à l'inanition dans les tubes capillaires un total de 3.500 Paramécies. Ce chiffre peut paraître fort limité, mais en travaillant sur des individus isolés (procédé qui demande beaucoup de temps), on n'arrive à mettre en expérience qu'une trentaine de Paramécies par jour. Mes expériences ont duré du 1^{er} janvier jusqu'au 1^{er} juillet ; je les repris les premiers jours de novembre, après un intervalle de quatre mois, durant lesquels seules mes cultures furent entretenues, pour vérifier définitivement les résultats obtenus.

MÉTHODE DE PRÉPARATION.

Il ne me reste maintenant qu'à dire quelques mots sur la méthode de fixation et de coloration dont je me suis servie durant mes recherches.

En employant, à titre d'essai, les fixatifs tels que l'acide picrique, l'acide chromique, l'acide osmique et le sublimé acidulé,

indiqués par mes prédécesseurs, je suis arrivée à constater que les fixatifs combinés, contenant d'autres acides que l'acide osmique, dissolvent tous plus ou moins rapidement les cristaux d'excrétion et donnent, par ce fait une image inexacte de la structure endoplasmatique des Paramécies. Le formol produit le même effet. Mes meilleurs résultats furent obtenus en me servant de sublimé corrosif ou d'acide osmique, ce dernier fixatif est surtout à recommander quand il s'agit de mettre bien en évidence les cristaux en question.

La fixation doit être instantanée, afin d'éviter l'expulsion des trichocystes; on l'obtient en opérant sur un seul individu contenu dans une petite quantité d'eau (goutte expulsée du tube capillaire). Si la fixation, tout en étant rapide, n'est cependant pas absolument instantanée, les trichocystes font explosion, mais ils restent en place. Les résultats de fixation sont d'autant meilleurs qu'on laisse agir le liquide fixatif moins de temps.

Comme colorant, j'ai constamment employé le carmin à l'alun fort dilué (teinte rouge clair) et en le laissant agir dans les préparations un temps assez long (2-5 heures). L'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN et le carmin boracique ne m'ont pas donné de résultats satisfaisants; la première coloration, très élective et parfaitement appropriée pour les coupes, ne convient pas pour les préparations *in toto*. Le carmin boracique nécessite, pour la décoloration, l'emploi de l'alcool acidulé, lequel, par sa teneur en acide chlorhydrique, dissout rapidement et complètement les cristaux d'excrétion, en faussant, de cette façon les images données de l'endoplasma.

Dans la plupart des cas, j'ai conservé mes préparations dans la glycérine; cette dernière permettant d'éviter les nombreux passages par les alcools, déforme beaucoup moins les objets délicats, que le procédé au baume de Canada, surtout, si l'on a soin de l'employer toujours mélangée d'eau, laquelle en s'évaporant augmente petit à petit la concentration de la glycérine.

Grâce à cette précaution de passer insensiblement de l'eau à la glycérine, on peut obtenir des préparations de Paramécies, dont la forme générale du corps, de même que les cils, sont parfaitement conservés.

En me servant des méthodes décrites ci-dessus, j'ai fait durant mes recherches 350 préparations, d'après lesquelles j'ai exécuté la plupart de mes dessins à l'aide d'une chambre claire.

J'ai décrit tous les procédés concernant les cultures, la mise en expérience et les préparations d'une manière détaillée, car ayant souffert moi-même de l'absence presque complète d'indications précises sur le mode opératoire dans les travaux concernant les Infusoires, j'ai voulu éviter aux commençants les tâtonnements, qui leur feraient perdre du temps.

D'autre part, les facteurs qui déterminent une réaction physiologique étant multiples, il faut connaître d'une manière exacte quelles ont été les conditions d'une expérience, si l'on veut pouvoir la répéter avec quelque chance d'arriver aux mêmes résultats que le premier observateur.

IV. Expériences personnelles.

Je vais résumer les résultats obtenus dans mes expériences sur l'inanition de *Paramecium caudatum*, en suivant le même ordre que j'ai adopté dans le tableau comparatif, où j'ai placé en regard les uns des autres les résultats de mes prédécesseurs. Je traiterai donc successivement des effets physiologiques et anatomiques dus à l'inanition.

EFFETS PHYSIOLOGIQUES.

J'exposerai en premier lieu les données relatives à la durée de la vie pendant l'inanition, car la connaissance de cette durée

est absolument indispensable pour apprécier la valeur des indications concernant le moment où se produit tel ou tel effet physiologique ou anatomique.

DURÉE DE LA VIE A L'ÉTAT D'INANITION.

Je dois insister sur le fait que les chiffres donnés par mes prédécesseurs n'indiquent point la durée de l'inanition, mais celle de l'expérience, comptée depuis la mise à l'inanition d'une quantité de Paramécies (Hungerkultur), jusqu'à la mort des derniers individus.

Pour ma part, j'ai trouvé que la durée moyenne de l'inanition des Paramécies normales, isolées dans les tubes capillaires varie de 5 à 7 jours. Les Paramécies contenant des Algues vertes résistent mieux à l'inanition et la durée de celle-ci atteint 10 à 12 jours; vers la fin de l'expérience, presque toutes les Algues sont rejetées et il n'en reste que quelques-unes dans la partie postérieure du corps. Les Algues expulsées continuent à se développer très bien dans le tube en formant une longue traînée du côté de la lumière.

Des individus suralimentés avec du bouillon de viande ou une solution de glycose (0,1 %) (fig. 3) peuvent supporter l'inanition jusqu'à 15 à 20 jours. Ceux qui sont fraîchement issus d'une bipartition, de même que ceux qui sortent de la conjugaison, meurent de l'inanition au bout de 3 jours; cette courte durée s'explique facilement par un état d'épuisement de l'Infusoire, qui ne récupère l'état normal que grâce à une forte nutrition.

On voit par ce qui précède que, dans les conditions de température et de lumière constantes, indiquées dans le chapitre précédent, la durée de vie pendant l'inanition dépend de l'état physiologique des Paramécies mises en expérience et, d'autre part, du soin avec lequel ont été opérés les lavages précédant leur isolement (si les lavages sont moins nombreux ou faits en

gros, la durée de l'inanition dépasse même 20 jours). Il est intéressant de noter que la même durée (plus de 20 jours) fut observée par PENARD (29) chez *Amoeba terricola*, tandis que, dit cet auteur, « d'autres Amibes ou Rhizopodes testacés, à condition qu'ils soient dépourvus de Zoochlorelles, sont loin de montrer une pareille résistance et meurent après 4 ou 5 jours » (page 186).

MOUVEMENTS DE TRANSLATION.

Comme principal effet physiologique de l'inanition, je constatai, chez toutes les Paramécies, un ralentissement général des phénomènes vitaux. Ce ralentissement porte en première ligne sur les mouvements de translation. A chaque modification du corps produite par l'inanition et décrite plus loin, correspond un mouvement de translation caractéristique. Ainsi, lorsque le corps s'aplatit, le mouvement est très ralenti (environ 4 fois plus faible que la vitesse normale du mouvement $\frac{1}{7}$ cm. par sec.), mais il est néanmoins rectiligne. Lorsque le corps de la Paramécie se courbe en forme de croissant, ses mouvements cessent d'être rectilignes, car le changement de la symétrie longitudinale du corps provoque l'inégalité de l'action des cils des différentes parties du corps; de cette inégalité, combinée avec la rotation de l'Infusoire autour de son grand axe, résulte un mouvement en zigzag. Quand la rotation est empêchée par une cause quelconque, la même déformation du corps de la Paramécie amène un mouvement circulaire. Lorsque la Paramécie est à l'état piriforme, son mouvement de translation devient presque nul : l'Infusoire tourne sur place, l'extrémité antérieure dirigée vers le bas et l'extrémité postérieure renflée décrivant de grands cercles.

IRRITABILITÉ.

Pour mesurer l'irritabilité des Paramécies durant l'inanition, je les ai exposées (dans les tubes capillaires) à des chocs gra-

duellement renforcés, en laissant tomber les tubes d'une hauteur variant de 5 à 35 cm. Ce moyen, quoique très simple, m'a permis de constater l'affaiblissement progressif et notable de l'intensité de réaction à cet excitant, ainsi que l'augmentation sensible du temps de réaction et de la durée de cette dernière.

Le temps de réaction comprenant l'intervalle entre le moment d'action d'un excitant et le moment où suit la réaction, c'est-à-dire la réponse de l'organisme, celle-ci, au lieu d'être instantanée comme les premiers jours de l'expérience, ne se produit vers la fin de l'inanition qu'après quelques secondes. En général, les deux derniers jours, les Paramécies inanitiées restent dans un état d'engourdissement. Comme le long jeûne les a rendues fort petites et transparentes, il devient difficile de les distinguer dans les tubes, surtout quand elles restent immobiles; pour me faciliter la tâche de les trouver rapidement je devais les faire sortir de leur immobilité et j'atteignais ce but en les soumettant à des chocs. Une chute de tube de 35 cm. de hauteur ne suffisait parfois pas et je devais répéter la même opération deux ou trois fois avant que l'Infusoire fût forcé de nager; même cette dernière excitation, quoique déjà assez forte, n'agissait que peu de temps (15 à 30 sec.) et la Paramécie ne tardait pas à reprendre sa place préférée vers le ménisque.

VÉSICULES CONTRACTILES.

Les effets de l'inanition sur le jeu des vésicules contractiles s'exprime par le ralentissement de leur rythme. Ainsi l'intervalle entre deux systoles successives au lieu d'être égal à 30 à 40 sec., comme c'est le cas chez une Paramécie normale, devient, vers la fin de l'expérience (5^{me} ou 7^{me} jour), égal à 50 à 60 sec.

Il est vrai que le rythme des vésicules contractiles est sujet, sous l'action de divers facteurs (température, densité et composition chimique du milieu, compression par lamelle, etc.), à des

variations considérables. De plus, on observe souvent chez le même individu une différence de 10 sec. dans l'intervalle entre des systoles des deux vésicules; en général, c'est l'intervalle entre des systoles de la vésicule postérieure, qui est plus grand.

Quant à la diminution des dimensions des vésicules et de leurs canaux, diminution observée par WALLENGREN dans la seconde période de l'inanition, je ne l'ai pas constatée.

DIVISION SCISSIPARE.

La théorie de JICKELI (19) selon laquelle la division cellulaire n'est point favorisée par l'abondance de nourriture, mais au contraire par la pénurie de celle-ci, m'aurait conduit à supposer que les Infusoires soumis à l'inanition me fourniraient de nombreux exemples de scissiparité accélérée. Ce fut l'inverse qui se produisit. Tandis que dans les cultures où je les puisais, les Paramécies se multipliaient à raison d'une bipartition par 24 heures en moyenne, la grande majorité de celles qui étaient isolées dans les tubes et privées de nourriture cessèrent de se diviser. Sur tous les individus soumis à l'inanition, je n'ai observé que 11 cas de division et encore est-il possible que les individus qui les ont offerts avaient déjà commencé l'opération avant leur isolement, car leur bipartition s'est produite peu de temps après ce dernier.

On sait que R. HERTWIG (16) est arrivé, dans ses recherches relatives à l'influence de la quantité de nourriture sur la division des Infusoires, à cette conclusion que l'état général (tonus) nécessaire à la production de la scissiparité est en raison inverse de l'intensité des processus d'assimilation. L'Infusoire très bien nourri se divise peu. Il semble qu'une forte assimilation soit inhibitrice des phénomènes préparatoires à la division. J'ai, en effet, pu observer que les Paramécies suralimentées dans une solution de glycose à 0,1 % ou dans un bouillon de viande, par

exemple, atteignent des dimensions considérables, très supérieures à la moyenne (fig. 3), sans se diviser. En tous cas, le nombre des bipartitions est alors moins grand qu'il ne l'est dans les milieux de culture moins riches en aliments.

CONJUGAISON.

La méthode d'isolement dont je me suis servie me rendit naturellement impossible toute observation concernant la conjugaison. Afin d'étudier les effets de l'inanition dans toute leur étendue, j'ai modifié un peu ma méthode en mettant dans un tube capillaire plusieurs (5 à 10) Paramécies. Pas un seul cas de conjugaison ne se présenta, ce qui peut être attribué en partie à l'absence probable d'attraction sexuelle entre les individus mis en expérience, vu surtout leur petit nombre.

Néanmoins, il me paraît probable que la privation de nourriture est un moyen insuffisant à lui seul et incapable de provoquer la conjugaison. L'influence de la pénurie de nourriture combinée à d'autres agents favorables à la production des conjugaisons (tels que le changement de la température, la modification de la composition chimique du milieu) ressort des recherches de PRANDTL (31). Cet auteur, en effet, en se basant sur les données de R. HERTWIG (14.15) sur les moyens artificiels pour obtenir une dépression physiologique, obligeant les Infusoires à se conjuguer, a pu obtenir de nombreuses conjugaisons de *Didinium nasutum*, en les soumettant d'abord à une suralimentation à basse température (15° C.), puis à l'inanition à une température de 25° C.

Mes observations sur l'influence de l'inanition dans le cas d'individus placés dans les tubes, dans l'état de conjugaison, m'ont donné quelques résultats intéressants. Ainsi, les Paramécies soumises à l'inanition à l'état de syzygie, ont montré même après cinq jours (depuis la mise en tubes) un morcellement de

leur macronucléus (fig. 9), tandis que dans les conditions normales la première bipartition des Paramécies issues de la conjugaison a lieu, selon MAUPAS (27), trente-six heures après la séparation; j'ai pu vérifier cette donnée sur des syzygies-témoins isolées simultanément dans des verres de montre et pourvues d'une nourriture abondante.

Lorsque le début de l'expérience coïncide avec le commencement de la fusion des cytostomes, mais sans que les transformations nucléaires se soient produites, les conjugués se séparent aussitôt après leur introduction dans le tube. La résistance de chacun d'eux contre les effets destructifs de l'inanition est alors la même que celle des Paramécies mises en expérience dans un état de conjugaison plus avancé et qui achèvent leur conjugaison pendant le cours de l'expérience.

Ce fait semble vérifier les données de CALKINS (4, 5), selon lesquelles le rajournissement caryogamique (voir MAUPAS [27]) peut être produit non seulement par la conjugaison, mais aussi par des excitants mécaniques (tels que des secousses) ou des excitants chimiques (tels que l'alcool, l'extrait de viande, différents sels, etc.). Dans ce dernier cas il s'agirait, selon l'auteur, d'une sorte de parthénogénèse artificielle.

MORT.

La conséquence naturelle de l'inanition est la mort. Durant mes recherches, j'ai pu constater deux sortes de mort : la mort lente, physiologique, et la mort brusque, occasionnée par des actions mécaniques, auxquelles auraient résisté des Infusoires normaux. La mort lente est caractérisée par ce qu'on appelle, d'après VERWORN (40), la décomposition granulaire (*der körnige Zerfall*), décrite par l'auteur dans l'ouvrage cité. J'ai vu les granulations du protoplasma des cadavres des Paramécies se conserver dans le milieu habituel pendant deux à trois jours; petit à petit les contours du corps mort disparaissent et le pro-

toplasma se désagrège; le macronucléus s'aperçoit alors facilement grâce à sa teinte plus foncée que celle du protoplasma.

Dans le cas de mort brusque, laquelle fut déjà observée par WALLENGREN, il se produit une rupture subite de la membrane et une sorte d'explosion de son contenu, qui s'éparpille dans l'eau environnante, où l'on ne retrouve dès lors que des lambeaux de la membrane. Je n'ai constaté une telle mort par explosion que dans les cas où je faisais sortir du tube capillaire sur le porte-objet une Paramécie déjà très affaiblie par une longue inanition, ce qui me fait penser que l'éclatement est alors provoqué par le choc contre le porte-objet à la sortie du tube.

Il est probable que la résistance de la membrane est moindre à la fin de l'expérience et que sa perméabilité ayant changé, ces deux modifications entraînent un état d'équilibre instable du protoplasma, qui rend possible l'explosion subite de la Paramécie inanitiée lorsqu'elle est heurtée.

RECONSTITUTION.

Si l'on interrompt l'inanition assez tôt, c'est-à-dire aux environs du troisième au cinquième jour, et que l'on replace la Paramécie dans un verre de montre contenant un mélange d'eau et de liquide nourricier, la dose de celui-ci étant progressivement accrue, on voit, déjà après vingt-quatre heures, se produire une amélioration dans son aspect général, et insensiblement l'Infusoire redevient normal. Trois à cinq jours plus tard, il recommence à se diviser. J'ai observé que la marche des phénomènes de reconstitution est exactement l'inverse de celle des dégradations dues à l'inanition de l'Infusoire. Sur ce point, je ne puis que confirmer les observations de WALLENGREN.

EFFETS ANATOMIQUES.

Les effets anatomiques de l'inanition ne sont pas moins sensibles que ceux touchant à la physiologie de l'Infusoire. J'exposerai

successivement les modifications anatomiques constatées: 1° dans le protoplasma (l'endoplasma et l'ectoplasma), et par conséquent les changements de la forme et du volume du corps; 2° dans le macronucléus et 3° dans le micronucléus. Mes observations relatives aux modifications concernant la structure intime des *Paramecies* seront forcément fragmentaires, m'étant bornée à les examiner au microscope sur des individus vivants ou fixés, mais sans procéder à des coupes. Je me propose de compléter ultérieurement mon étude sur ce point.

ENDOPLASMA.

Les modifications endoplasmiques commencent déjà vingt-quatre heures après le début de l'inanition. La première est la disparition progressive des vacuoles digestives. Pour suivre cette disparition, je me suis servie du rouge neutre (Neutralroth); cette coloration vitale permet, par la différence des teintes, de reconnaître les vacuoles digestives anciennes de celles qui ont été fraîchement formées. Grâce au mouvement protoplasmique (cyclose), les bols alimentaires passent après leur formation dans la partie antérieure du corps, puis retournent dans la partie postérieure, où ils demeurent jusqu'à l'achèvement complet des processus de l'assimilation. Ainsi, dès le troisième ou le quatrième jour, alors qu'il ne reste plus de vacuoles digestives dans la partie antérieure du corps, on en voit encore deux ou trois dans sa partie postérieure.

Le protoplasma lui-même acquiert petit à petit une transparence de verre, ce qui permet, pendant les derniers jours de l'inanition, d'observer sur le vivant le macronucléus, grâce à sa plus grande réfringence. Cette transparence protoplasmique est due, à mon avis, non seulement à l'absence des particules nutritives dans l'endoplasma, mais aussi aux réactions chimiques qui s'y sont passées. Il paraît, en particulier, que les substances chromatiques disparaissent complètement, car il devient

impossible de colorer le protoplasma par les teintures nucléaires habituelles (carmin à l'alun, par exemple). De leur côté, les teintures protoplasmiques (brun de BISMARCK, Bordeauxroth) donnent une coloration beaucoup plus faible.

Mes prédécesseurs sont tombés d'accord sur le fait d'une vacuolisation endoplasmatique augmentant progressivement pendant toute la durée de l'inanition; finalement, selon eux, des vacuoles de dimensions énormes déforment complètement le corps des Paramécies et peuvent même, par leur rupture, provoquer la mort subite des infusoires (WALLENGREN).

Personnellement, je n'ai observé aucun cas d'une telle vacuolisation endoplasmatique, qu'en revanche j'obtins dans toute son intensité dans des conditions autres que l'inanition, ainsi que je le décrirai plus loin.

L'inanition influe encore sur la disposition et le nombre des cristaux d'excrétion (Excretkörner), qui deviennent très visibles, grâce à l'absence des bols alimentaires qui les cachent en partie chez les individus normaux. L'étude de ces cristaux au moyen de réactions microchimiques pratiquées sur le *Paramecium caudatum* par SCHEWIAKOFF (34), dont les résultats furent vérifiés par SCHUBOTZ (35) sur des Amibes, avait permis de considérer ces cristaux comme formés d'orthophosphate de calcium monoacide ($\text{Ca}_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_2$). SCHEWIAKOFF observa aussi que, chez les Paramécies inanitiées, le nombre des cristaux diminue considérablement. Il a vu ceux qui subsistent s'approcher, vers la fin de l'inanition, du macronucléus, tandis qu'à l'ordinaire ils sont tous accumulés plutôt vers une des extrémités du corps de l'Infusoire. J'ai fait exactement les mêmes observations.

Notons, en passant, que le nombre et la grandeur des cristaux en question chez les Paramécies normales dépendent du lieu nourricier employé pour la culture; ainsi, le bouillon de viande, le blanc d'œuf et, en général, toutes les substances riches elles-mêmes en phosphates, favorisent mieux leur formation que

l'infusion de l'*Alga carrageen*. Dans un ouvrage récent, PRANDTL (32) prétend avoir observé la formation de ces cristaux chez l'*Amœba proteus*, dans des chromidies à l'intérieur des vacuoles.

ECTOPLASMA.

La couche ectoplasmatique ne subit pas de modifications importantes au cours de l'inanition. Sa vacuolisation, observée par CHAINSKY, ne s'est jamais présentée durant mes recherches. Les trichocystes et les cils persistent jusqu'aux derniers moments de la vie. Les premiers deviennent même plus visibles par contraste avec la transparence du corps. Ils peuvent cependant manquer sur les préparations, lorsque la fixation n'est pas instantanée, ce qui est le plus souvent le cas, quand on traite plusieurs Paramécies à la fois par les réactifs. Il est à remarquer que, même dans ce cas, les trichocystes persistent presque toujours aux deux extrémités du corps de Paramécie, ceux des côtés étant seuls à faire explosion.

FORME ET VOLUME DU CORPS.

Les modifications de la forme du corps d'une Paramécie soumise à l'inanition ne deviennent appréciables que vers le quatrième jour; on aperçoit alors facilement l'aplatissement dorso-ventral de la partie antérieure du corps; le sillon buccal s'allonge et, sur la face dorsale, dans la partie postérieure du corps de l'inanitié, apparaissent deux dépressions. Une troisième, ventrale, apparaît également, mais elle est moins prononcée (fig. 4). Ces dépressions s'étendent parfois presque jusqu'à la moitié antérieure du corps. On les observe surtout sur un individu vivant, tournant lentement autour de son grand axe; on voit alors très nettement le plissement de sa partie postérieure.

Chez plusieurs individus, je pus constater, vers le cinquième jour de l'inanition, une courbure caractéristique du corps. La face dorsale devient alors concave et la face ventrale convexe; le

cytostome est à ce moment très visible, car, grâce à la courbure, il est refoulé à la périphérie du corps. La différence habituelle existant entre les deux extrémités du corps (l'antérieure émoussée et la postérieure plus pointue) disparaît; tout le corps s'arrondit sans conserver de trace de l'aplatissement ni des plis mentionnés et, vu de profil, il a la forme d'un croissant (fig. 5).

Malgré toute la peine que je me suis donnée pour constater les formes intermédiaires entre le premier et le second stade, je n'en ai point observées; même, dans beaucoup de cas, je ne pus voir, chez les Paramécies inanitiées, que le premier de ces stades; la production du second me semble néanmoins probable dans tous les cas, et ce n'est, sans doute, qu'à cause de sa courte durée qu'il a pu échapper à mon examen.

Quelquefois aussi, j'ai remarqué que la Paramécie soumise à l'inanition depuis quelques jours (six ou sept), puis expulsée du tube capillaire, prend, sur le porte-objet, un aspect piriforme (fig. 6). Si l'on ne réussit pas, à ce moment, à la fixer instantanément, elle éclate et l'on n'arrive à retrouver que des débris de sa membrane.

Quant aux dimensions du corps, elles diminuent progressivement dès les premiers jours de l'inanition; cette diminution porte surtout sur la largeur. La table ci-dessous indique les relations de la longueur et de la largeur de corps aux différents états de déformation. Les chiffres donnés sont des moyennes.

	Longueur du corps.	Largeur du corps.	Rapport de $\frac{\text{longueur.}}{\text{largeur.}}$
Paramécie normale . .	238 μ	54 μ	4,4
Paramécie aplatie . . .	124 μ	28,5 μ	4,4
Paramécie courbée . .	136,8 μ	28,8 μ	4,7
Paramécie piriforme. .	118 μ	46 μ	2,5

Il est intéressant de rappeler ici que dans ses *Recherches expérimentales sur l'inanition*, CHOSSAT était arrivé à cette

conclusion « qu'un animal périt lorsqu'il a perdu environ les 0,4 de son poids normal ». On ne peut comparer les Infusoires aux animaux vertébrés sur lesquels opérait CHOSSAT. Nous n'avons d'ailleurs aucune donnée exacte sur les variations de poids de ces organismes inférieurs. Toutefois, à en juger par la diminution de leur volume, il semble qu'ils peuvent vivre encore après avoir subi, par l'inanition, une perte de leur substance beaucoup plus considérable que celle indiquée par CHOSSAT. Ainsi, HERTWIG (16) a observé chez *Dileptus gigas* une diminution de longueur de 0,7 mm. à 0,04 mm. (en mesurant le corps sans les appendices) et une diminution de largeur de 0,12 mm. à 0,02 mm. De son côté, WALLENGREN cite, d'après JOUKOWSKY (20), une diminution de longueur, chez *Pleurotricha lanceolata*, de 200 μ à 30 ou même à 15 μ . On voit que l'effet de l'inanition, dans ces cas, et beaucoup plus prononcé que chez le *Paramecium caudatum*.

La diminution des dimensions du corps des Paramécies inanitiées ne peut s'expliquer par la seule disparition des vacuoles digestives et il faut admettre comme très vraisemblable que la masse de l'endoplasma diminue.

MACRONUCLÉUS.

La première chose qui frappe dans les modifications subies par le macronucléus est l'augmentation de son volume, augmentation qui porte surtout sur la longueur et s'observe dès le deuxième ou le troisième jour de l'expérience (fig. 4).

Les rapports de la longueur du corps à la largeur chez les Paramécies normales et chez les inanitiées sont donnés en chiffres moyens dans la table ci-dessous.

	Longueur du macronucléus.	Largeur du macronucléus.	Rapport de $\frac{\text{longueur}}{\text{largeur}}$.
Paramécie normale . .	43 μ	32 μ	1.37
Paramécie inanitiée . .	57 μ	35 μ	1.63

J'ai souvent constaté que le macronucléus allongé change de position et vient se placer vers l'une des extrémités du corps, le plus souvent l'antérieure (fig. 5).

De plus, j'ai vu que vers le troisième ou quatrième jour de l'inanition, le macronucléus se divise transversalement en deux moitiés plus ou moins égales, lesquelles restent quelque temps dans le voisinage immédiat l'une de l'autre, puis, vers le cinquième ou sixième jour, elles s'écartent et chacune d'elles s'arrondit (fig. 7 et 8).

CHAINSKY (8. p. 93) en se basant sur la ressemblance morphologique des images de la fragmentation du macronucléus due à l'inanition, et celles de la division amitotique, étend cette analogie aux phénomènes physiologiques et explique la division du noyau, dans les deux cas, par la pression interne du suc nucléaire accumulé à son intérieur sous l'influence de l'inanition. Ces deux phénomènes me semblent n'avoir rien de commun, attendu que, selon mes observations, contraires sur ce point à celles de CHAINSKY, la fragmentation s'opère toujours sans l'étranglement caractéristique de la division amitotique. De plus, CHAINSKY admet l'existence du jeûne volontaire chez la Paramécie en division et donne comme seule explication de cette supposition « que la Paramécie est occupée par les phénomènes amitotiques » (p. 90). Même en laissant de côté l'insuffisance de cette explication, cet arrêt de la nutrition ne peut, faute du temps nécessaire, produire la fragmentation du macronucléus. En effet, CHAINSKY indique, lui-même, que la fragmentation n'a lieu que durant la 2^{me} période de l'inanition (malheureusement il ne donne nulle part la durée de ces périodes); dans mes expériences, la fragmentation n'avait jamais lieu que vers le troisième ou le quatrième jour de l'inanition. Cette constatation ne permet guère d'expliquer la division amitotique, se produisant dans les conditions normales chaque vingt-quatre heures et ne durant pas plus de

douze à dix-huit heures, par l'influence des phénomènes d'inanition.

Mes prédécesseurs ont essayé d'expliquer les modifications anatomiques du macronucléus (l'augmentation du volume et la fragmentation) par l'augmentation de la chromatine à son intérieur (KASANZEFF), ou par la production de vacuoles aux dépens du suc nucléaire (CHAINSKY).

Pour vérifier le fait indiqué par KASANZEFF de l'augmentation de la chromatine, j'ai comparé plusieurs préparations contenant chacune une Paramécie inanitiée et une Paramécie normale, ayant séjourné toutes deux le même temps dans la même goutte de teinture et qui avaient été fixées et préparées de la même manière. En procédant ainsi, j'ai trouvé que le macronucléus des Paramécies inanitiées se colore plus vite et plus intensivement que le macronucléus des Paramécies normales. Cette constatation ne m'amène cependant pas à la conclusion qu'en tire KASANZEFF, car la plus grande rapidité avec laquelle le macronucléus se colore peut être due à la moindre résistance offerte par le protoplasma inanitié à la pénétration de la matière colorante. Quant à la différence d'intensité de coloration, elle me semble n'être qu'apparente, le macronucléus coloré de la Paramécie inanitiée ressortant mieux du protoplasma parfaitement incolore dans lequel il se trouve, que ne le fait le macronucléus des Paramécies normales, dont le protoplasma en pareille occurrence prend toujours une légère teinte rougeâtre.

KASANZEFF décrit en outre l'expulsion de la chromatine du macronucléus (expulsion qui suit de près l'augmentation de son volume) dans les termes suivants : « Bei den nicht allzu stark vergrößerten Grosskernen findet die Reduktion ihrer Masse in der Weise statt, dass aus dem Kerne ein unregelmässig gestalteter Klumpen von gelblicher Substanz ins Protoplasma ausgeschieden wird und in dem Kerne selbst homogene, scharf umgrenzte Körner auftreten, welche später aus dem Kerne auch in

das Protoplasma überwandern; diese Art der Reduktion der Kernmasse ist leicht zu übersehen. Besser ist die Reduktion bei stark vergrösserten Grosskernen zu verfolgen. Es werden dann von dem Grosskerne Bruchstücke abgetrennt, welche ohne Rest aufgelöst werden. Der Prozess ist hier besser zu verfolgen, weil in solchen Fällen der Vorgang nicht von der übrigbleibenden Grosskernmasse verdeckt wird. Bei der Reduktion solcher Bruchstücke sieht man auch Ausscheidung einer gelblichen Substanz ».

Je n'ai jamais observé cette expulsion chromatique dans le cas d'un macronucléus resté entier, ni la fragmentation de ce dernier en plusieurs morceaux de différentes dimensions. Les deux parties du macronucléus paraissaient toujours conserver leurs contours très nets jusqu'à la mort de l'inanition, ce qui ne pourrait avoir lieu s'il y avait une expulsion de la chromatine de la façon décrite et représentée (fig. 4-7) par KASANZEFF.

Les modifications anatomiques du macronucléus, constatées par CHAINSKY, consisteraient, avons-nous dit, dans la décomposition chimique de la chromatine et dans l'accumulation sous forme de vacuoles à l'intérieur du macronucléus du liquide, qui résulte de cette décomposition.

La décomposition chimique de la chromatine durant l'inanition me semble être bien vraisemblable. L'accumulation du liquide résultant de cette décomposition aurait pour effet l'augmentation du volume du macronucléus et serait, selon moi, intramicellaire, ce qui ferait comprendre la possibilité de l'augmentation du volume du noyau par distension sans formation de vacuoles macronucléaires (contrairement à l'opinion de CHAINSKY).

MICRONUCLÉUS.

Les modifications du micronucléus sont beaucoup moins prononcées. Dans la plupart des cas, il quitte le voisinage immédiat du macronucléus vers le 5^{me} jour de l'inanition; parfois, il émi-

gre même vers une des extrémités du corps de la Paramécie inanitiée (fig. 4).

C'est vers la même époque que se produit quelquefois l'augmentation de son volume. Le micronucléus de la Paramécie normale est sphérique et d'après mes mesures, en moyenne de $7,5 \mu$ de diamètre. Chez un individu inanitié, il s'allonge et atteint 9μ de longueur, la largeur restant de $7,5 \mu$.

De plus, j'ai pu constater, dans un cas, la présence de deux micronucléi dans un même individu inanitié (fig. 10). Chacun de ces micronucléi accompagnait une des moitiés du macronucléus divisé. Ce fait peut être considéré comme un exemple d'une division incomplète due à l'inanition ou comme étant dû à la présence inexpliquée d'un exemplaire de *Paramecium aurelia* (caractérisé par les deux micronucléi) dans une culture pure de *Paramecium caudatum* (caractérisé par un seul micronucléus).

La première explication ne me paraît pas probable; en effet, l'inanition devrait faire sentir ses effets sur un nombre plus considérable des Paramécies. La deuxième explication devient possible depuis que CALKINS (7), a constaté que les *Paramecium caudatum* et *Paramecium aurelia* ne représentent qu'une seule espèce. En effet, il a obtenu dans une culture provenant d'une seule Paramécie des individus offrant les caractères spécifiques des deux espèces en question.

N'ayant pas pratiqué de coupes, je n'ai pas constaté de modifications dans la structure intime du micronucléus. KASANZEFF et WALLENGREN, en se basant uniquement sur les préparations *in toto*, ont prétendu avoir vu dans le micronucléus les figures caryokinétiques. Pour ma part, je n'ai pu constater que des cas d'allongement du micronucléus, qui pouvait être le signal du début d'une division mitotique.

La présence du micronucléus intact jusqu'au dernier moment de l'expérience dénote sa résistance à l'inanition et, étant donnée sa grande importance physiologique, nous avons ici un exemple,

déjà mentionné par WALLENGREN et montrant que l'organisme inférieur, en s'adaptant à des conditions alimentaires défavorables, sacrifie, comme le font les êtres supérieurs, ses organes selon l'ordre de leur utilité pour la conservation de l'individu et de l'espèce.

V. Observations et expériences concernant les phénomènes de la dégénérescence et de la vacuolisation chez les Paramécies.

J'ai eu l'occasion de noter quelques faits accessoires touchant à la dégénérescence d'Infusoires en culture et qui me semblent mériter d'être exposés ici avec quelques détails.

En examinant au microscope les Paramécies, prises dans une culture dont le milieu nourricier n'avait pas été renouvelé depuis quelques semaines (4 à 8), je fus frappée d'y constater la coexistence de Paramécies normales et bien nourries et d'individus présentant tous les caractères d'une forte dénutrition. Les préparations d'individus appartenant à cette dernière catégorie montrèrent des altérations analogues à celles des Paramécies expérimentalement inanitiées. Ces modifications touchent, dans les deux cas, à l'aspect extérieur du corps, à la transparence du protoplasma, ainsi qu'à la forme du macronucléus et à sa division en deux morceaux (fig. 11).

J'ai observé ces derniers phénomènes chez des Paramécies ayant vécu dans de vieilles cultures qui avaient été préparées avec la peptone (0,1 %), l'albumine en poudre (0,1 %), la glycose (0,1 %), la gélatine (0,5 %), l'agar-agar (0,5 %) et l'*Alga carrageen* (5 %). La rapidité avec laquelle les phénomènes de la dégénérescence se produisent dans un milieu non renouvelé, varie avec la nature de ce milieu. Ces milieux sont énumérés dans l'ordre de leur moindre action dégradante, mais, dans tous

les cas, les résultats finaux sont identiques. Il faut aussi noter que la température plus élevée (30° à 35° C), ainsi que la plus forte concentration du milieu, accélèrent sensiblement l'apparition de ces phénomènes.

Des observations analogues furent faites par POPOFF (30) sur le *Paramecium caudatum* et le *Stylonychia mytilus*, élevés dans une infusion de feuilles de salade, où le développement des Bactéries avait été très fort. Les dégénérescences, constatées par l'auteur chez les Infusoires en question, coïncident presque entièrement avec celles qui sont dues à l'inanition, telles que je les ai obtenues. La seule différence touche à l'expulsion de la chromatine qui fut observée par POPOFF et ne s'est pas présentée dans mes expériences.

Pour expliquer la dégénérescence des Paramécies dans les vieilles cultures, on peut recourir à plusieurs hypothèses, que je vais passer brièvement en revue.

1° Une dégénérescence sénile (MAUPAS [27]), au sens propre du mot, pourrait provenir du fait que les Paramécies au point de départ d'une culture ne sont pas de même âge.

2° R. HERTWIG (15, 16), en constatant les effets de la dégénérescence chez l'*Actinosphærium Eichhorni*, chez le *Dileptus gigas* et chez le *Paramecium caudatum*, est arrivé à les expliquer par l'existence de périodes de dépression physiologique alternant avec des périodes d'activité normale de l'organisme. La nutrition surabondante, aussi bien que l'inanition ou la multiplication agame (par bipartition) des Protozoaires cités, rompraient l'équilibre entre la substance nucléaire et le cytoplasma au profit du noyau et produiraient une dégénérescence physiologique. CALKINS (3-6) et POPOFF (30) ont confirmé cette hypothèse en opérant sur le *Paramecium caudatum* et sur le *Stylonychia mytilus*.

3° Les deux individus issus de la bipartition pourraient, me semble-t-il, ne pas être physiologiquement équivalents, mais

présenter une activité organique différente. ce qui ferait que les uns resteraient normaux, tandis que les autres s'écarteraient du type normal en présentant les caractères d'une dégénérescence au bout d'un certain nombre de générations. Cette hypothèse me paraît parfaitement admissible: elle s'appuie sur la constatation, faite par CALKINS (6) et confirmée par CULL (9), d'un phénomène analogue, qui a lieu dans la conjugaison des Paramécies. Ici, cette inégalité se rencontre: l'un des ex-conjugués ne jouit qu'à un faible degré des effets salutaires de la conjugaison; le rajeunissement caryogamique au sens de MAUPAS (27) ne se fait sentir dans toute sa force que sur l'autre individu, qui seul survit, alors que le premier, dans la plupart des cas, périt au bout de peu de temps.

4° Une dernière hypothèse qui me paraît plus admissible encore, est celle qui attribue la dégénérescence des Paramécies à une lente intoxication due aux toxines excrétées par les Bactéries qui leur servent d'aliment, ainsi qu'aux produits de désassimilation des Infusoires eux-mêmes. Cette hypothèse fut exposée pour la première fois par KULAGIN (23). LOISEL (25), LE DANTEC (24) et CALKINS (3.4) l'ont adoptée en la modifiant un peu. La différence de leur interprétation réside surtout dans l'importance plus ou moins grande qu'ils attribuent aux produits bactériens dans la production des phénomènes de l'intoxication. Dernièrement, ENRIQUES (10) a contribué dans une large mesure à la confirmation de cette hypothèse. Grâce à ses procédés d'isolement et de renouvellement du milieu nourricier, cet auteur a réussi à cultiver le *Glaucoma scintillans* en évitant l'action des produits d'élimination des Infusoires en expérience et celle des toxines bactériennes. Le résultat de ses expériences est l'absence, dans ces conditions alimentaires, de toute dégénérescence, même après sept mois de culture et l'obtention de cent trente-six générations.

On voit, par conséquent, que tantôt les Infusoires dégènèrent

rapidement dans les cultures, tantôt ils s'y maintiennent normaux pendant un grand nombre de générations; cela dépend de la manière dont ces cultures sont conduites et, selon moi, de la présence ou de l'absence en elles de certaines espèces de Bactéries. Il est très probable que les produits excrétés par les Bactéries, se développant dans les divers milieux propres à la culture des Infusoires, ne sont pas également toxiques pour ces derniers. Voici du moins une expérience qui me paraît le prouver.

Je place dans l'obscurité un certain nombre de cultures fraîchement préparées de Paramécies dans l'eau, avec l'*Alga carrageen*, et je constate qu'au bout de deux mois, le nombre des Paramécies a énormément augmenté, pendant que le liquide nourricier où elles sont dispersées est demeuré parfaitement clair. Deux mois plus tard, au contraire, le nombre des Paramécies a sensiblement diminué, ce qui peut s'expliquer par l'épuisement progressif de la provision alimentaire. Je rajoute alors un peu d'eau pour compenser celle qui s'est évaporée et une nouvelle quantité d'*Alga*, le nombre des Paramécies s'accroît de nouveau et deux mois plus tard encore, c'est-à-dire six mois après le début de l'expérience, malgré l'obscurité qui est une condition généralement défavorable à la prospérité des cultures infusoriennes, les miennes sont fort riches et les individus qui les composent ne présentent aucun des phénomènes de dégénérescence signalés plus haut. Ce n'est pas que les Bactéries fissent défaut dans ces cultures, mais celles qui y dominaient appartenaient à la classe des Chlamydo bactériacées (*Cladothrix dichotoma*), lesquelles sont, ainsi que les Beggiatoacées (*Beggiatoa alba*), très propres à nourrir les Paramécies.

La même expérience faite au moyen d'autres milieux nutritifs tels que le bouillon de viande ou des solutions de peptone et de glycose, qui sont éminemment favorables au développement des Bactéries produisant la fermentation butyrique, ainsi qu'à celui

du *Bacillus vulgaris*, agent de la putréfaction, conduit à des résultats tout différents. Au bout de peu de temps on y constate nombre d'individus dégénérés par intoxication.

Dans les conditions habituelles, les cultures renferment à côté des Bactéries peu nocives, des Bactéries telles que les butyriques (*Clostridium butyricum*) et il y a toute raison d'attribuer à l'intoxication due aux produits excrétés par ces dernières le plus grand rôle dans les phénomènes de la dégénérescence des Paramécies. Le fait est que si au lieu de laisser longtemps des Infusoires dans le même liquide nourricier, on renouvelle fréquemment celui-ci, si, par exemple, on transporte chaque semaine les Paramécies en expérience dans une nouvelle quantité de liquide fraîchement préparé, on évite complètement la dégénérescence et en particulier les conjugaisons. Ainsi au cours d'un élevage ininterrompu durant 17 mois, fait dans ces conditions, et qui m'a fourni approximativement 500 générations de Paramécies, je n'ai jamais constaté un seul cas de conjugaison ni aucun signe de dégénérescence. Ayant poursuivi cet élevage dans les mêmes conditions jusqu'à ce jour sans qu'il s'y soit produit de conjugaison, il semble que cette dernière ne soit pas aussi indispensable qu'on ne l'admet généralement.

Il me reste encore à citer quelques cas exceptionnels où j'ai pu constater une énorme vacuolisation de l'endoplasma. Ces cas ont été observés sur des Paramécies puisées dans une vieille culture faite au bouillon de viande et restée à une température de 30 à 35° C. pendant au moins cinq semaines, ainsi que sur des individus provenant d'une culture faite dans un mélange de peptone (0,1 %) et de glycose (0,1 %), où un riche développement d'algues vertes du genre *Raphidium* s'était produit. Ces cas de vacuolisation (fig. 12) sont, dans tous leurs détails, identiques à ceux observés par mes prédécesseurs et considérés par eux comme l'effet le plus caractéristique de l'inanition. Frappée par cette ressemblance et n'ayant d'ailleurs jamais constaté ce

phénomène de vacuolisation durant mes recherches sur l'inanition, j'ai tenté quelques expériences dans le but de me renseigner sur la nature de ces vacuoles et sur la cause de leur apparition. J'ai trouvé qu'il suffit d'ajouter une certaine proportion (un tiers) d'eau distillée à une goutte des cultures citées plus haut, pour que les individus vacuolisés que contient cette goutte perdent leurs vacuoles dans l'espace de vingt-quatre heures. Le même effet s'observe lorsqu'on remplace l'eau distillée par de l'eau ordinaire ou par des solutions plus denses de glycose (jusqu'à 0,5 ‰), ce qui prouverait que l'influence de la pression osmotique ne joue pas de rôle dans le phénomène de la vacuolisation.

De plus, les expériences de KÖLSCH (22), de GREELEY (13), de FAGGIOLI (12) et de BOKORNY (2), qui ont étudié l'action toxique de diverses substances chimiques sur les Infusoires, notamment sur le *Paramecium caudatum*, ainsi que les résultats obtenus par les deux derniers auteurs relativement à la production de vacuoles par l'ammoniaque à 1:2500 ou le carbonate d'ammonium à 1:3000 (BOKORNY) et en général par l'action des alcalis et des sels ammoniacaux (FAGGIOLI), m'ont suggéré l'idée que la vacuolisation des Paramécies, dans les cas cités plus haut, pourrait être due aussi à la présence des sels ammoniacaux, très possible dans un milieu nourricier riche en matières albuminoïdes.

Afin de vérifier cette supposition, j'ai ajouté à une culture fraîchement préparée, contenant des Paramécies dans un état parfaitement normal, du carbonate d'ammonium à la dose de 1:20000. N'ayant observé aucun effet au bout de vingt-quatre heures, je doublai la dose et, le lendemain, je pus reconnaître une vacuolisation commençante. Le carbonate d'ammonium peut d'ailleurs être employé jusqu'à la dose de 1:2000.

Il y a avantage, en répétant cette expérience, à placer le sel en cristaux dans la culture elle-même, car il y diffuse lentement

et agit plus graduellement sur les Infusoires. D'autre part, j'ai obtenu, en vingt-quatre heures, une forte vacuolisation avec l'ammoniaque en solution (1:100.000) et en douze heures avec le nitrate d'ammonium (1:2000). Il vaut mieux procéder par étapes et ajouter la substance alcaline par doses successives, jusqu'à ce qu'on ait atteint la quantité nécessaire; en opérant autrement, on risque de tuer les Paramécies par liquéfaction, sans pouvoir observer la vacuolisation. Du reste, si on laisse les Infusoires séjourner dans le milieu additionné d'une de ces substances, ils meurent au bout d'un ou deux jours à partir du début de la vacuolisation.

BOKORNY, en constatant la vacuolisation protoplasmique chez les Amibes, produite par l'action de la caféine (1:1000), l'explique comme suit : « Die Vacuolen sind offenbar durch Wasserausscheidung aus dem Plasma zu Stande gekommen, das stärkere Lichtbrechungsvermögen ist Folge des grösseren Substanzreichthums im Plasma; der Grund der Dichtigkeitszunahme ist wahrscheinlich in einer Polymerisation des activen Albumins zu suchen, » (p. 559). Après avoir relaté ses expériences concernant l'action des bases sur les Protozoaires, l'auteur arrive à cette conclusion : « Als Resultat obiger Versuchen ergibt sich, dass auch manches thierische Plasma durch Basen in dichteren Zustand (unter Wasserausstossung) übergeführt werden kann, ohne die lebende Beschaffenheit einzubüssen, » (p. 562).

L'explication de BOKORNY de la vacuolisation protoplasmique par l'expulsion de l'eau, expulsion provoquée par un changement d'équilibre chimique des substances albuminoïdes dû à l'action des bases, me paraît être très vraisemblable. Il est à désirer — BOKORNY lui-même exprime ce vœu — que l'on puisse multiplier les expériences à ce sujet, afin de montrer le bien-fondé de son explication.

Il me reste à noter que j'ai trouvé, dans une collection de

préparations d'Infusoires considérés comme normaux, appartenant au laboratoire de Zoologie de l'Université de Genève, des Paramécies complètement déformées par des vacuoles endoplasmiques. Ces Paramécies avaient été, sans doute, prises dans un cristallisoire contenant une vieille culture ; il y a donc toute raison d'attribuer leur énorme vacuolisation à l'action de l'ammoniaque accumulée à la suite d'une décomposition des matières organiques du milieu.

VI. Conclusions.

1° La durée de la vie pendant l'inanition chez *Paramecium caudatum* varie d'un individu à l'autre. Elle est en moyenne de 5 à 7 jours. Toutes choses égales d'ailleurs, elle est d'autant plus courte que l'inanition est plus rigoureuse. Elle est sensiblement supérieure à la moyenne chez les individus suralimentés et, chez ces derniers, peut être exceptionnellement prolongée jusqu'à 20 jours.

2° A partir du quatrième jour de l'inanition, l'animal se déforme, il s'aplatit dorso-ventralement, puis s'incurve en forme de croissant dont la convexité est dorsale. En même temps, les extrémités du corps s'arrondissent.

3° Les dimensions diminuent progressivement ; cette diminution porte surtout sur la largeur, en sorte que l'animal devient proportionnellement plus long qu'à l'état normal. Il meurt lorsqu'il a perdu à peu près la moitié de son volume initial.

4° Tandis que l'ectoplasme ne subit aucun changement, que les cils et les trichocystes demeurent intacts pendant toute la durée de l'inanition, l'endoplasme perd peu à peu la totalité de ses vacuoles digestives et une partie de ses cristaux ; il acquiert par là une grande transparence.

5° A l'inverse du corps plasmatique, le macronucléus augmente de volume, il s'allonge, se fend en deux moitiés presque

égales, lesquelles s'arrondissent et s'écartent l'une de l'autre. Ce fractionnement n'a aucun rapport avec la division amitotique et ses produits persistent jusqu'à la mort sans subir de digestion.

6° Le micronucléus s'écarte du macronucléus au cours de l'inanition. Il ne subit, dans la règle, aucune altération ni dans sa forme, ni dans sa structure, quelle que soit la durée de l'inanition.

7° Les Paramécies, dont l'inanition n'a pas été poussée à l'extrême, peuvent récupérer tous leurs caractères normaux lorsqu'elles sont replacées dans des milieux dont le pouvoir nutritif, d'abord très faible, est lentement accru.

8° La mort est précédée par un ralentissement progressif de toutes les fonctions, y compris le jeu des cils vibratiles et les contractions des vacuoles pulsatiles.

9° La dégénérescence des Paramécies inanitiées est, d'une manière générale, semblable à celle des individus qui, dans les vieilles infusions, subissent l'intoxication par les produits d'excrétion des Bactéries butyriques ou d'autres Bactéries de la putréfaction.

10° La vacuolisation de l'endoplasme, signalée par quelques auteurs comme un effet de l'inanition, ne peut être attribuée à cette cause. Elle paraît être le résultat de l'action chimique des produits ammoniacaux toujours présents dans les infusions qui sont le siège de phénomènes de putréfaction.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. BARRATT, W. *Die Kohlensäureproduction von Paramecium Aurelia*, Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. V, p. 66-72, 1903.
2. BOKORNY Th. *Einige vergleichende Versuche über das Verhalten von Pflanzen und niederen Thieren gegen basische Stoffe*, Arch. f. gesamt. Physiol., Bd. 59, p. 557-562, 1895.
3. CALKINS, G.-N. and LIEB, C.-C. *Studies on the Life-History of Protozoa. II. The effect of stimuli on the Life-Cycle of Paramecium caudatum*, Arch. f. Protistenk., Bd. I, p. 355-371, 1902.
4. CALKINS, G.-N., IDEM. III. *The six hundred and twentieth generation of Paramecium caudatum*, Biol. Bulletin, Woods Holl., Bd. III, p. 192-205. 1902. Compte rendu in Zool. Jahresbericht, 1902.
5. ID. I. *The Life-Cycle of Paramecium caudatum*, Arch. f. Entw.-mech., Bd. XV, p. 139-186, 1903.
6. ID. IV. *Death of the A series. Conclusions*, Journ. Exper. Zool., Baltimore, vol. I, p. 423-464, 1904. Compte rendu in Zool. Jahresber., 1907.
7. ID. *Paramecium Aurelia and Paramecium caudatum*, Biol. Stud. Pupils W. Th. Sedgwick, p. 40, 1907. Compte rendu in Zool. Jahresber., 1907.
8. CHAINSKY, A. *Observations physiologiques sur les Paramécies* (en russe). Travaux du Labor. Zootom. de l'Univ. à Varsovie, vol. XXXV, p. 1-101, 1906.
9. CULL, S. *Rejuvenescence as the result of conjugation*. Journ. Exper. Zool. Baltimore, vol. IV, p. 85-89, 1907. Compte rendu in Zool. Jahresber., 1907.
10. ENRIQUES, P. *Sulla così della degenerazione senile dei Protozoi*, Monitore zool. ital., An. 13, Suppl., p. 49-50, 1903.
 ID. *Della degenerazione senile negli Infusori*, Rendic. Accad. Lincei, An. 302, vol. 14, p. 351-357, 1905.
 ID. *Ancora della degenerazione senile negli Infusori*, Ibid., p. 390-395, 1905. Compte rendu in Arch. f. Entw.-mech., Bd. 27, 1909.
11. ID. *La coniugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori*, Arch. f. Protistenk., Bd. IX, p. 195-296, 1907.

12. FAGGIOLI, F. *Di alcune azioni chimiche studiate sui Protozoi*, Nota 1^a : Estratto dagli Atti della Società Ligustica di Scienze Nat. e Geogr., An. IV, vol. IV, p. 1-36, 1894.
13. GREELEY, A. *Experiments on the physical structure of the protoplasm of Paramecium and its relation to the reactions of the organism to thermal, chemical and electrical stimuli*, Biol. Bulletin, Woods Holl., vol. VII, p. 3-32, 1904.
14. HERTWIG, R. *Was veranlasst die Befruchtung bei Protozoen?* Sitzungsber. Gesel. f. Morph. u. Physiol., München, Bd. XV, p. 62-69, 1899.
15. ID. *Ueber physiologische Degeneration bei Protozoen*, Ibid., Bd. XVI, p. 88-94, 1900.
16. ID. *Ueber Korrelation von Zell und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle*, Biol. Centralbl., Bd. 23, p. 49-62; 108-119, 1903.
17. JENNINGS, H.-S. II. *Heredity, variation and evolution in Protozoa*, Proceed. of the Amer. Philosoph. Society, vol. 47, n° 190, p. 393-546, 1908.
18. JICKELI, C. H. *Wissenschaftliche Mitteilungen. Ueber die Kernverhältnisse der Infusorien*, Zool. Anz., Bd. VII, p. 468-473; 491-497, 1884.
19. ID. *Die Unvollkommenheit des Stoffwechsels als Grundprinzip für Werden und Vergehen im Kampf ums Dasein*, Berlin, 1902.
20. JOUKOWSKY, D. *Beiträge zur Frage nach den Bedingungen der Vermehrung und des Eintrittes der Konjugation bei den Ciliaten*, Verhandl. d. Nat. Med. Vereins zu Heidelberg, N.-F., Bd. 6, H. 1, p. 17-42, 1898.
21. KASANZEFF, VI. *Experimentelle Untersuchungen über Paramecium caudatum*, Inaug.-Dissert., Zürich, p. 1-58, 1901.
22. KÖLSCH, K. *Untersuchungen über die Zerfliessungserscheinungen der ciliaten Infusorien*, Zool. Jahrbüch, Abt. f. Anat., Bd. XVI, p. 273-422, 1902.
23. KULAGIN, N. *Zur Biologie der Infusorien* (en russe). Le Physiologiste russe, t. I, p. 269-279, 1899.
24. LE DANTEC, F. *L'unité dans l'être vivant*, Paris, 1902, p. 412.
25. LOISEL, G. *Sur la sénescence et sur la conjugaison des Protozoaires*, Zool. Anz., Bd. 26, p. 484-495, 1903.
26. MAUPAS, E. *Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés*, Arch. d. Zool. expér. et génér. (2), vol. VI, p. 165-277, 1888.
27. ID. *Le rajeunissement karyogamique chez les Ciliés*, Ibid., vol. VII, p. 149-517, 1889.

28. NIRENSTEIN, E. *Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protisten*, Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. V, p. 434-510, 1905.
 29. PENARD E., *Observations sur les Amibes à pellicule*, Arch. f. Protistenk., Bd. VI, p. 175-206, 1905.
 30. POPOFF, M. *Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen*, Arch. f. Protistenk., Suppl. I, p. 43-82, 1907.
 31. PRANDTL, H. *Die Konjugation von Didinium nasutum*, Arch. f. Protistenk., Bd. VII, p. 229-258, 1906.
 32. ID. *Die physiologische Degeneration der Amoeba proteus*, Arch. f. Protistenk., Bd. VIII, p. 281-294, 1907.
 33. PÜTTER, A. *Die Atmung der Protozoen*, Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. V, p. 566-613, 1905.
 34. SCHEWIAKOFF, W. *Ueber die Natur der sogenannten Exkretkörner der Infusorien*, Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 57, p. 32-56, 1894.
 35. SCHUBOTZ, H. *Beiträge zur Kenntnis der Amoeba blattae und Amoeba proteus*, Arch. f. Protistenk., Bd. VI, p. 1-47, 1905.
 36. SOSNOWSKI, J. *Relations entre le noyau et le protoplasma chez les Protozoaires* (en russe). Trav. d. Labor. Zootom. Varsovie, vol. XX, p. 1-47, 1899.
 37. STATKEWITSCH, P. *Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten*, Arch. f. Protistenk., Bd. V, p. 17-39, 1905.
 38. STOLC, A. *Plasmodiogenie, eine Vermehrungsart der niedersten Protozoen*, Arch. f. Entw.-mech., Bd. XXI, p. 111-125, 1906.
 39. THON, K. *Ueber den feineren Bau von Didinium nasutum*, Arch. f. Protistenk., Bd. V, p. 281-321, 1905.
 40. VERWORN, M. *Der körnige Zerfall. Ein Beitrag zur Physiologie des Todes*, Arch. f. gesamt. Physiol., Bd. 63, p. 253-272, 1896.
 41. ID. *Physiologie générale*, trad. française par E. Hédou, Paris, 1900, p. 664.
 42. WALLENGREN, H. *Inanitionserscheinungen der Zelle. Untersuchungen an Protozoen*. Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. I, p. 67-128, 1901.
-